

23.967/H/06



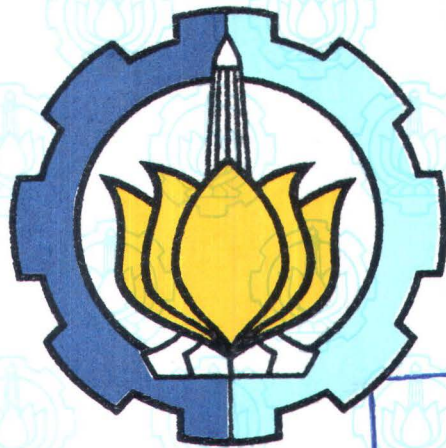
SKRIPSI

ISOLASI BAKTERI AEROB HIDROKARBONOKLASTIK DARI LUMPUR AKTIF DAN AIR LAUT SERTA LAJU PERTUMBUHANNYA DALAM SENYAWA BTX

Oleh :

ANDRIANA DWI SAVIRA
1501 100 037

RSB
628.357
Sav
6-1
2006



PERPUSTAKAAN ITS	
Tgl. Terima	10-3-06
Terima Dari	H
No. Agenda Prp.	224827

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA
2006**

**LEMBAR PERSETUJUAN
SKRIPSI**

**ISOLASI BAKTERI AEROB HIDROKARBONOKLASTIK DARI
LUMPUR AKTIF DAN AIR LAUT SERTA LAJU
PERTUMBUHANNYA DALAM SENYAWA BTX**

Oleh :

ANDRIANA DWI SAVIRA
1501 100 037

Menyetujui,

Pembimbing I



Endry Nugroho P. SSi, MT
NIP. 132 276 190

Pembimbing II



ND. Kuswytasari SSi, MSi
NIP. 132 206 282

Surabaya, 26 Februari 2006

Mengetahui

Ketua Program Studi Biologi



Dra. Dian Saptarini, M.Sc
NIP. 132 010 713

LEMBAR PENGESAHAN
SKRIPSI

**ISOLASI BAKTERI AEROB HIDROKARBONOKLASTIK DARI
LUMPUR AKTIF DAN AIR LAUT SERTA LAJU
PERTUMBUHANNYA DALAM SENYAWA BTX**

Oleh :

ANDRIANA DWI SAVIRA
1501 100 037

Telah diuji pada tanggal 6 Februari 2006

Menyetujui,

Penguji I



Ir. Sri Nurhatika, MP
NIP. 131 918 690

Penguji II



Endry Nugroho P. SSi, MT
NIP. 132 276 190

Penguji III



N.D. Kuswytasari SSi, MSi
NIP. 132 206 282

Penguji IV



Dewi Hidayati, SSi, MSi
NIP. 132 206 287

Penguji V



Dra. Enny Zulaika, MP
NIP. 131 773 918

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengisolasi dan menentukan laju pertumbuhan bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif dan air laut yang menggunakan BTX sebagai sumber karbon dan energi untuk pertumbuhannya. Pengambilan sampel dilakukan di sistem lumpur aktif IPAL SIER dan air laut Pelabuhan Tanjung Perak, Surabaya. Perlakuan terdiri dari tahap pengenceran dan isolasi, tahap skrining, tahap prekultuur, dan tahap penentuan laju pertumbuhan. Penelitian dilakukan dengan menggunakan media air laut sintetis, air mineral sintetis, NA (*Nutrient Agar*), dan NB (*Nutrient Broth*). Data dianalisis secara deskriptif eksperimental dengan 2 kali pengulangan. Nilai laju pertumbuhan tertinggi untuk bakteri laut ditunjukkan oleh isolat 3, yaitu sebesar 0,2663 CFU/Jam, dan laju pertumbuhan terendah diperlihatkan oleh isolat bakteri 4, yaitu sebesar 0,0632 CFU/Jam. Untuk bakteri dari lumpur aktif, laju pertumbuhan tertinggi ditunjukkan oleh isolat 2, yaitu sebesar 1,1254 CFU/Jam, dan isolat 5 memiliki laju pertumbuhan terendah, yaitu sebesar 0,0998 CFU/Jam. Bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif memiliki kemampuan lebih baik dalam memanfaatkan BTX, ditunjukkan dengan perbandingan laju pertumbuhannya yang lebih tinggi dibandingkan bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari air laut.

Kata kunci : BTX, isolasi, laju pertumbuhan, bakteri aerob hidrokarbonoklastik, air laut, lumpur aktif

ABSTRACT

Have been done a research which aim insulating and determine growth rate of bacterium of hydrocarbonoclastic aerobic from activated sludge and seawater using BTX as source of carbon and energi for its growth. Intake of samples done in system of activated sludge of IPAL SIER and seawater of Port of Tanjung Perak, Surabaya. Treatment consist of phase of thinning and insulation, phase skringing, phase prekultur, and phase of growth current determination. Research done by using media seawater sintetis, mineral water sintetis, NA (Nutrient Agar), and NB (Nutrient Broth). Data analysed descriptively eksperimental by two repetition times. Assess highest growth rate for the seawater bacterium shown by isolat 3, that is equal to 0,2663 CFU/Jam, and growth rate of lowest showed by isolat 4, that is equal to 0,0632 CFU/Jam. For bacterium from activated sludge, highest growth rate shown by isolat 2, that is equal to 1,1254 CFU/Jam, and isolat 5 owning lowest growth rate, that is equal to 0,0998 CFU/Jam. Bacterium of hydrocarbonoclastic aerobic from activated sludge own good special capability in exploiting BTX, shown with comparison of its growth rate is higher compared to bacterium of hydrocarbonoclastic aerobic from seawater.

Keyword : BTX, insulation, growth rate, bacterium of hydrocarbonoclastic aerobic, seawater, activated sludge.

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb,

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT, karena berkat Kuasa dan Rakhmat-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proporsal Tugas Akhir ini yang berjudul : “Isolasi Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dari Lumpur Aktif dan Air Laut serta Laju Pertumbuhannya Dalam Senyawa BTX “.

Dalam kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Endry Nugroho P. S.Si, M.T selaku Dosen Pembimbing I yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk memberikan bimbingan dan pengarahan.
2. Ibu N.D. Kuswyasari, S.Si, M.Si selaku Dosen Pembimbing II atas bimbingan dan pengarahannya yang begitu banyak dan berarti.
3. Ibu Dra. Dian Saptarini, M.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi FMIPA ITS.
4. Ibu Ir. Sri Nurhatika, MP ; Ibu Dewi Hidayati, SSi, MSi; dan Ibu Dra. Enny Zulaika, MP selaku Dosen Penguji yang telah banyak memberikan saran dan bersedia meluangkan waktunya.
5. Bapak Soedaryono, Pak Didik, dan staf mikro lain yang telah banyak membantu mengarahkan dan memberikan semangat bagi saya selama melakukan penelitian.
6. Keluarga yang sangat aku sayangi yaitu Papa dan Mama, mas dan adikku, serta segenap keluarga besarku yang telah memberikan doa dan dukungan penuh hingga terselesaikannya skripsi ini..
7. Ely, Nuren, Yuni, Ani serta seluruh teman-teman Biologi ITS angkatan 2001, terima kasih atas bantuannya dan kebersamaan indah selama ini.

8. Sobatku Ama, Ratna, dan Ndah CikYen yang telah banyak mendukung sejak lama hingga kini; serta yang sangat aku sayangi, keluarga Mestro dan Opa, yang selalu mengingatkan dan mendukung penuh semangat dalam melewati semua keadaan.
9. Dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu yang telah banyak membantu hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca. Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari sempurna, untuk itu saran dan kritik membangun akan diterima dengan senang hati. Akhir kata, semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan serta rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua sebagai manusia yang tiada sempurna, Amin.

Wassalamualaikum, Wr. Wb.

Surabaya, 9 Februari 2006

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

JUDUL

LEMBAR PERSETUJUAN.....	ii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERSEMBAHAN.....	iv
ABSTRAK.....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Permasalahan.....	3
1.3 Tujuan.....	4
1.4 Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
BAB III METODE PENELITIAN.....	25
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....	25
3.2 Lokasi Pengambilan Sampel.....	25
3.3 Alat, Bahan, dan Cara Kerja.....	25
3.3.1 Pengambilan Sampel.....	25
3.3.2 Pengenceran dan Isolasi.....	26

3.3.3 Skrining bakteri Uji.....	27
3.3.4 Pembuatan Prekultur.....	29
3.3.5 Penentuan Laju Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji.....	30
3.3.5.1 Pengkulturan Bakteri Uji	30
3.3.5.2 Pengukuran Jumlah Koloni	30
3.3.5.3 Pengukuran Laju Pertumbuhan Bakteri.....	31
3.3.6 Pembuatan Kontrol.....	32
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1 Hasil Isolasi.....	33
4.2 Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji.....	34
4.3 Laju Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji.....	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	47
5.1 Kesimpulan.....	47
5.2 Saran.....	48
DAFTAR PUSTAKA.....	49
LAMPIRAN.....	53

DAFTAR TABEL



Tabel	Nama	Hal
2.2	Sifat-Sifat BTX	6
2.3	Daftar Genus Mikroorganisme Hidrokarbonoklastik	9
4.1	Sifat-Sifat Koloni Isolat bakteri Hidrokarbonoklastik Pemanfaat Senyawa BTX	24
2	Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX	47
4	Laju Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Nama	Hal
1	Struktur Senyawa Hidrokarbon	8
2	Rangkaian Glikolisis	10
3	Rangkaian Siklus Krebs	11
4	Rangkaian Sistem Transpor Elektron	11
5	Skematik Proses Biodegradasi oleh Bakteri	12
6	Proses <i>pemecahan orto</i>	18
7	Proses <i>pemecahan meta</i>	18
8	Mekanisme Pemanfaatan Senyawa Aromatik oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik	19
9	Fase Eksponensial Bakteri	22
10	Logaritma fase Eksponensial bakteri	22
11	Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme	23
3.1	Diagram Alir Uji Pengenceran dan Isolasi	27
3.2	Diagram Alir Uji Skrining	29
3.3	Diagram Alir Pembuatan Prekultur	30
3.4	Diagram Alir Penentuan Laju Pertumbuhan	32
4.1	Kurva Pertumbuhan Bakteri Laut	36
4.2	Kurva Pertumbuhan Bakteri Lumpur Aktif	40
4.3	Perbandingan Laju Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dari Air Laut dan Lumpur Aktif	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Nama	Hal
1	Pembuatan Medium	53
2	Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX	56
3	Jumlah Koloni Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX pada Fase Log	59
4	Laju Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX	61

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa hidrokarbon aromatik merupakan salah satu senyawa pencemaran yang sangat berbahaya karena termasuk dalam limbah B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun). Komposisi senyawa hidrokarbon di Indonesia banyak mengandung senyawa aromatik dan kadar belerangnya sangat rendah (Hadi, 2003). Senyawa hidrokarbon aromatik yang digunakan sebagai pelarut organik dalam bidang industri dapat menimbulkan efek biotoksin yang tinggi serta dapat menyebabkan kematian bagi banyak mikroorganisme dalam konsentrasi yang rendah sekalipun (Abe *et al.*, 1995; Boldrin *et al.*, 1993). Sedangkan pencemaran hidrokarbon di lautan yang dihasilkan dari masukan bahan bakar kapal hingga pencemaran minyak, menyebabkan kematian organisme air (Lee, 2000; Green and Trett, 1989).

Kelompok hidrokarbon aromatik telah digunakan secara luas dalam berbagai keperluan, mempunyai toksisitas yang tinggi serta memiliki efek karsinogenik dan mutagenik yang lebih tinggi daripada hidrokarbon alifatik (Keuth *et al.*, 1990; Boldrin *et al.*, 1993; Abe *et al.*, 1995; Chablain *et al.*, 1997). Senyawa yang termasuk kelompok hidrokarbon aromatik adalah BTX (Benzene-Toluene-Xylene). BTX bersifat toksik tinggi, kelarutan relatif (cenderung sukar larut dengan air), dan diaplikasikan secara luas dalam bidang industri dan dalam produk-produk petroleum.

Proses pemecahan senyawa hidrokarbon dapat terjadi secara alami di alam dengan menggunakan bantuan dari aktivitas mikroba yang tidak menimbulkan efek samping yang merugikan (Suyanto, 1998). Menurut Green and Trett (1989), proses pemecahan senyawa hidrokarbon berlangsung cepat pada suasana aerob dengan menggunakan mikroorganisme. Mikroorganisme yang mampu menggunakan senyawa hidrokarbon dalam aktivitas metabolismenya disebut sebagai mikroorganisme hidrokarbonoklastik (Atlas, 1992). Kemampuan luas mikroorganisme dalam menggunakan hidrokarbon telah diakui sejak 1946 (ZoBell, 1946 *dalam* Green and Trett, 1989). Indonesia sebagai negara tropis dipastikan memiliki keanekaragaman mikroorganisme hidrokarbonoklastik yang tinggi, diantaranya *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Pediococcus*, dan *Pseudomonas*. Mikroorganisme yang banyak hidup dan berperan di lingkungan situs hidrokarbon adalah bakteri (Kadarwati, *et al.*, 1998).

Laju pertumbuhan bakteri selama fase log menunjukkan besarnya pemanfaatan medium yang digunakan untuk berduplikasi. Laju pertumbuhan masing-masing spesies yang berbeda menunjukkan adanya kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi dan memanfaatkan medium untuk pertumbuhannya. Hal ini disebabkan oleh kemampuan adaptasi yang berbeda (Britton, 1984 *dalam* Leahy and Colwell, 1990).

Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) PT. SIER Rungkut Surabaya merupakan instalasi pengolahan limbah yang menggunakan sistem lumpur aktif. Limbah yang masuk ke IPAL PT. SIER Rungkut Surabaya berasal dari kurang lebih 250 pabrik, diantaranya pabrik pestisida, bahan kimia, dye, tinta

yang menggunakan senyawa BTX dalam prosesnya. Limbah berbahaya yang masuk ke IPAL akan diubah menjadi bahan buangan yang tidak berbahaya dengan bantuan mikroorganisme (Niken dan Razif, 2001).

Pelabuhan Tanjung Perak, Surabaya termasuk salah satu pelabuhan yang padat jalur transportasi dan perdagangan di pulau Jawa, dimana banyak penggunaan senyawa hidrokarbon (bahan bakar) oleh kapal-kapal setempat dan pengangkutan senyawa hidrokarbon (seperti minyak, gasoline) yang memungkinkan terjadinya pencemaran. Buangan hidrokarbon yang berbahaya tersebut diuraikan secara alami oleh aktivitas mikroorganisme (National Research Council 2002 *dalam* Prince *et al.*, 2003).

Bakteri aerob dapat tumbuh dalam sistem lumpur aktif dan air laut. Oleh karena bakteri tersebut dapat tumbuh di kedua habitat tersebut maka perlu diketahui karakteristik bakteri dan pertumbuhannya dalam medium kultur BTX.

1.2 Permasalahan

Senyawa toksik BTX dapat didegradasi cepat dalam suasana aerob oleh bakteri. Bakteri aerob memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi BTX, sehingga perlu diketahui isolat bakteri aerob yang memanfaatkan BTX paling besar dengan mengamati laju pertumbuhan yang paling tinggi dari dua habitat yang berbeda, yaitu lumpur aktif dan air laut.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah isolasi dan menentukan laju pertumbuhan bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif dan air laut yang menggunakan BTX untuk pertumbuhannya.

1.3 Manfaat

Manfaat dari penelitian adalah adanya solusi awal ditemukannya bakteri aerob hidrokarbonoklastik yang mampu memanfaatkan senyawa BTX dari habitat yang berbeda. Dengan hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan data untuk penelitian selanjutnya dalam mengungkapkan penggunaan (biodegradasi) senyawa BTX oleh bakteri hidrokarbonoklastik, sekaligus memberikan informasi ilmiah yang berguna dalam bioremediasi.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Senyawa Hidrokarbon

Senyawa hidrokarbon merupakan senyawa organik yang terdiri atas: hidrokarbon alifatik atau alkana, hidrokarbon naftenik, dan hidrokarbon aromatik. Senyawa hidrokarbon aromatik dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu monoaromatik dan poliaromatik. Dari kelompok senyawa monoaromatik ada beberapa yang termasuk toksik, diantaranya senyawa benzene, toluene, dan xylene (Udiharto, 2000).

2.2 BTX

BTX (benzene, toluene, xylene) merupakan senyawa hidrokarbon monoaromatik yang dapat ditemukan di minyak mentah, bahan bakar, dan produk petroleum lainnya. Senyawa BTX juga digunakan dalam industri sebagai “solvent” dan bahan “starter” untuk pestisida, plastik, dan tali sintetis. Senyawa BTX nampak 6,43 % hingga 36,47 % dalam bahan bakar (Irwin, 1997). Toluene dan xylene sendiri dimasukkan kedalam grup alkyl-benzene (Anonymous, 2005). Senyawa BTX dikarakteristikan dengan berat molekular rendah. BTX ditetapkan sebagai polutan prioritas oleh Environmental Protection Agency (EPA) karena seringkali hadir pada level signifikan dalam limbah industri (Arcangeli *et al.*, 1994; Evans *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1994;

Chang *et al.*, 1993 dalam Brown *et al.*, 2000). Tabel 2.3 dan Gambar 1 di bawah menunjukkan struktur dan sifat BTX secara umum.

2.2.1 Benzene

Sebagai senyawa kimia murni, benzene merupakan cairan tidak berwarna. Benzene secara umum terdapat di alam dalam konsentrasi rendah, dan hadir pula pada tumbuhan dan hewan. Benzene juga merupakan bahan utama kimia industri yang diperoleh dari batubara dan oil, juga sebagai bahan kimia pada berbagai produk plastik, pestisida, produksi kulit buatan, produksi karet, detergen, industri alas kaki; diperdagangkan, dan digunakan untuk keperluan penelitian (Mara and Lee, 1987; Windholz *et al.*, 1983; Gilman, *et al.*, 1985 dalam Kura, 2003), dan terdapat 1 hingga 2 persen pada bensin dan minyak gas. Benzene berbahaya bagi kesehatan manusia, antara lain mengganggu pembentukan sel darah (anemia dan internal bleeding, leukimia), mengganggu sistem saraf, bersifat karsinogenik, hingga menyebabkan kematian. Benzene dianggap sebagai “toksin tanpa ambang batas”, karena memberikan berbagai efek berbahaya dari setiap kedapatannya. Ambang batas terdapatnya benzene dalam badan air (menurut Health Canada Drinking Water Quality Guideline) sebesar 5 µg/L (Anonymous, 2005). Sedangkan menurut Peraturan Pemerintah No. 85 Tahun 1999 tanggal 7 Oktober 1999, menyatakan bahwa baku mutu untuk zat pencemar benzene dalam limbah sebesar 0,5 mg/L.

2.2.2 Toluene

Toluene atau lazim disebut methylbenzene, merupakan turunan benzene karena mengandung substituen alkyl yang melekat pada cincin benzene (Pine *et al.*, 1980). Menurut Pine *et al.* (1980) serta Wilbraham &

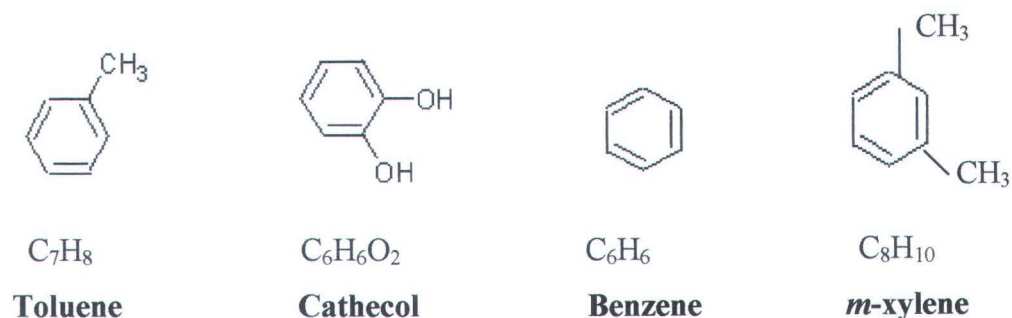
Matta (1984), toluene dapat diperoleh dari minyak bumi, batubara dan dari benzene yang direaksikan dengan CH_3Cl (dengan katalis AlCl_3); juga digunakan sebagai pelarut dalam cat, varnish, tinta untuk percetakan, bahan perekat (adhesive), pestisida, produk pembersih, dan untuk ekstraksi bahan kimia. Toluene merupakan komponen alami produk petroleum dan terdapat sekitar 8,3 % dalam bahan bakar. Sifat-sifat fisik toluene yaitu berbentuk cair, tidak berwarna, berbau manis yang tajam, dan sukar larut dalam air tetapi larut dalam pelarut organik. Sedangkan sifat-sifat kimia toluene dipengaruhi oleh substituen alkyl ($-\text{CH}_3$) yang melekat pada cincin benzene (Wilbraham and Matta, 1984).

Toluene merupakan salah satu kelompok monoaromatik hidrokarbon yang umumnya digunakan secara luas dalam bidang industri. Derivat dari toluene yang terkenal yaitu trinitrotoluene (TNT) yang merupakan bahan peledak. Dalam bidang industri, toluene umumnya digunakan sebagai pelarut. Selain itu derivat-derivat dari toluene yang sangat umum digunakan dalam bidang industri, antara lain: kresol, toluidin, benzyl klorida (Meek, 1961).

2.2.3 Xylene

Xylene hadir dalam salah satu dari tiga bentuk isomer: *ortho*, *meta*, *para*. Xylene merupakan cairan jernih, tidak berwarna, dengan bau aromatiknya kuat. Kebanyakan produksi xylene berasal dari katalitik reformasi petroleum dan sebagai produk pecahan oil. Juga sebagai pelarut pada berbagai produk, seperti cat, varnish, coating, bahan formula pestisida, bahan pencelup (dye), tinta percetakan, insektisida, farmasi, bahan perekat, produk pembersih, produk penghilang cat (paint removers), untuk ekstraksi bahan kimia, dan juga

digunakan sebagai “feed stock” pada industri plastik (EA, 1999; IPCS, 1997 dalam Kura, 2003). Badan WHO menetapkan, ambang batas zat pencemar xylene dalam air minum sebesar 500 µg/L.



Gambar 1. Struktur senyawa hidrokarbon (Stephen, 2002)

Tabel 2.2. Sifat-sifat BTX (Sumber : Lee *et al.*, 2000)

Keterangan	Formula	Water Solubility	Percent (by weight) in Gasoline	Molecular Weight (g/mol)	Densitas (g/ml @ 20 °C)
Benzene	C_6H_6	1780mg/L	0.12-3.50	78.12	0.87865
Toluene	$C_{11}H_{16}O$	535 mg/L	2.73-21.8	92.15	0.8669
o-Xylene	C_8H_{10}	175 mg/L	0.68-2.86	106.17	0.8802
m-Xylene	C_8H_{10}	175 mg/L	1.77-3.87	106.17	0.8642
p-Xylene	C_8H_{10}	175 mg/L	0.77-1.58	106.17	0.8611

2.3 Tinjauan Tentang Metabolisme Degradasi Xenobiotik

Kemampuan mikroorganisme untuk mendegradasi senyawa organik disebabkan oleh kemampuan genetiknya. Informasi genetik dibuat oleh DNA dan terdapat dalam sel bakteri dalam kromosom dan plasmid. Kromosom bakteri bersifat tunggal, sirkular. Plasmid merupakan DNA ekstrakromosomal yang sebagian besar dimiliki bakteri. Banyak plasmid yang mengandung gen

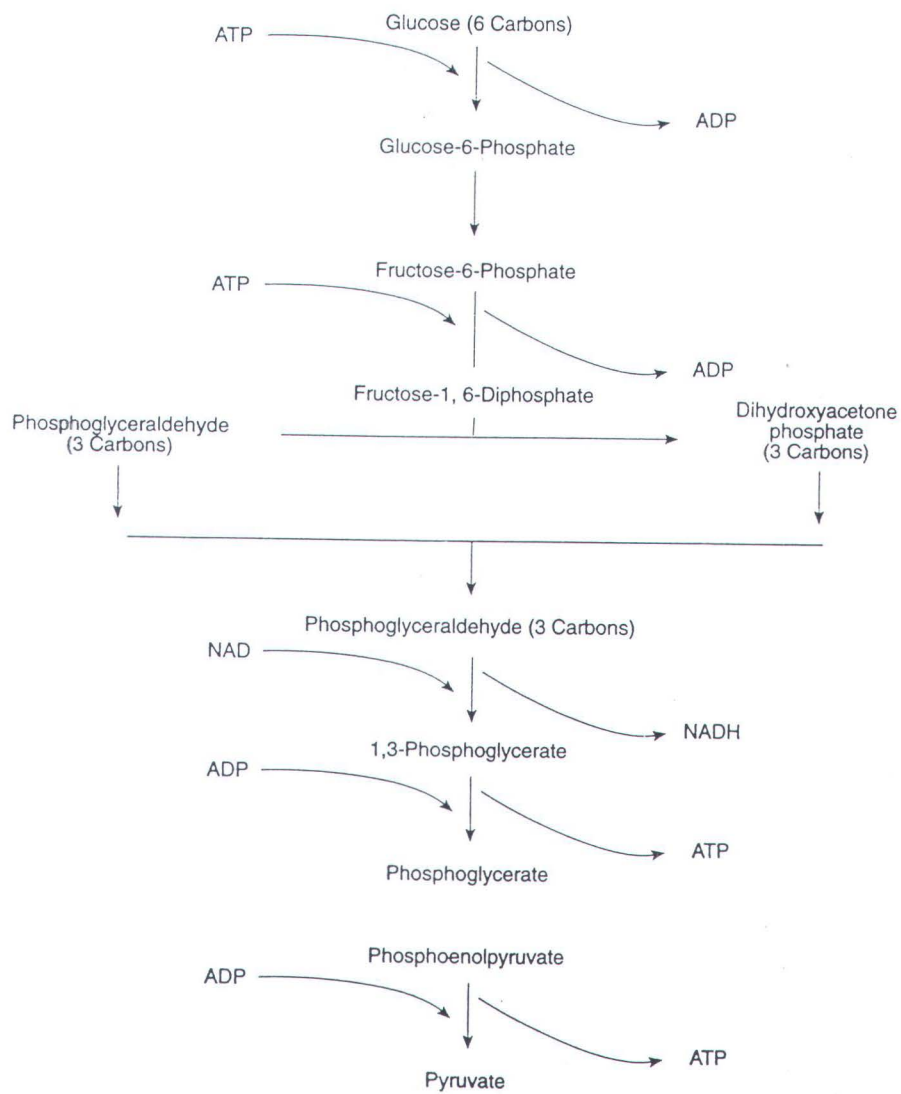
yang mengkode enzim yang penting untuk proses degradasi dalam bioremediasi. Plasmid merupakan “self-replicating”. DNA yang berasal dari plasmid dapat ditukar antar bakteri melalui proses konjugasi, transformasi, dan transduksi. Plasmid juga penting dalam pengembangan mikroorganisme baru dengan kemampuan degradasi berbeda (Green and Trett, 1989).

Pada level transkripsi, aktivitas lain untuk memanfaatkan sumber karbon dan energi dapat melalui aksi *operons*. *Operons* merupakan bagian DNA yang mengandung gen yang mengkode enzim dan sebagai kontrol yang menentukan gen yang akan ditranskripsikan. Pada kasus *induksi*, kehadiran substrat yang dapat menghasilkan sintesis enzim, disebut *enzim-induksi*, yang dapat mendegradasi substrat. Pada kasus *represi* (tekanan), kehadiran komponen spesifik akan menghentikan proses transkripsi (Green and Trett, 1989).

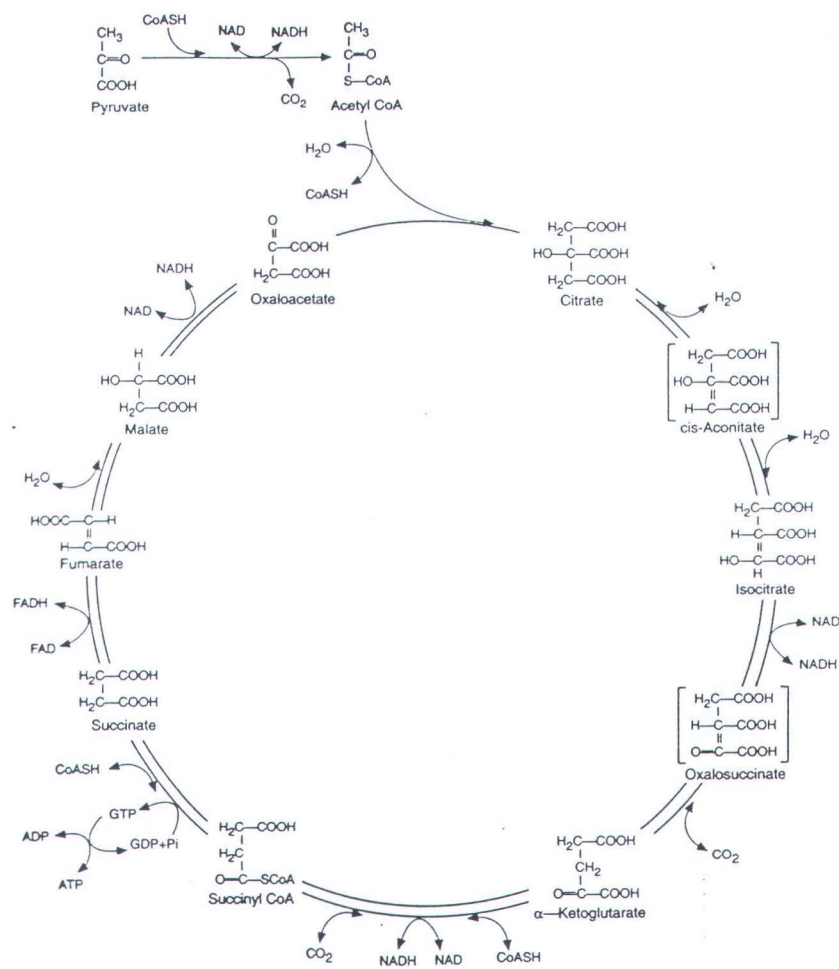
Bakteri memecah senyawa organik kompleks melalui reaksi metabolisme yang disebut katabolisme. Untuk respirasi bakteri, langkah utama metabolisme meliputi glikolisis (Gambar 2), siklus krebs (Gambar 3), dan sistem transpor elektron (Gambar 4), yang pada akhirnya menghasilkan karbondioksida, air dan energi (Green and Trett, 1989).

Bakteri mengembangkan variasi luas sistem respirasi. Hal ini dapat dikarakterisasikan sebagai reduktan dan oksidan alami (Cookson, 1995). Oksigen sebagai akseptor elektron terminal dan reaktan dalam metabolisme senyawa aromatik (Green and Trett, 1989) dan senyawa organik sebagai donor elektron. Dalam prosesnya, bakteri mempertahankan keseimbangan reaksi reduksi-oksidasi (Cookson, 1995). Mikroorganisme pendegradasi membutuhkan

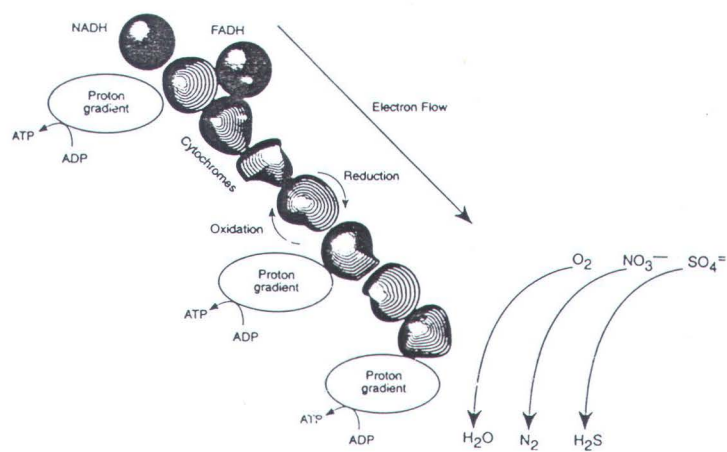
oksigen pada tahap awal biodegradasi untuk penyeberangan sustrat dan tahap akhir untuk respirasi sel.



Gambar 2. Rangkaian Glikolisis



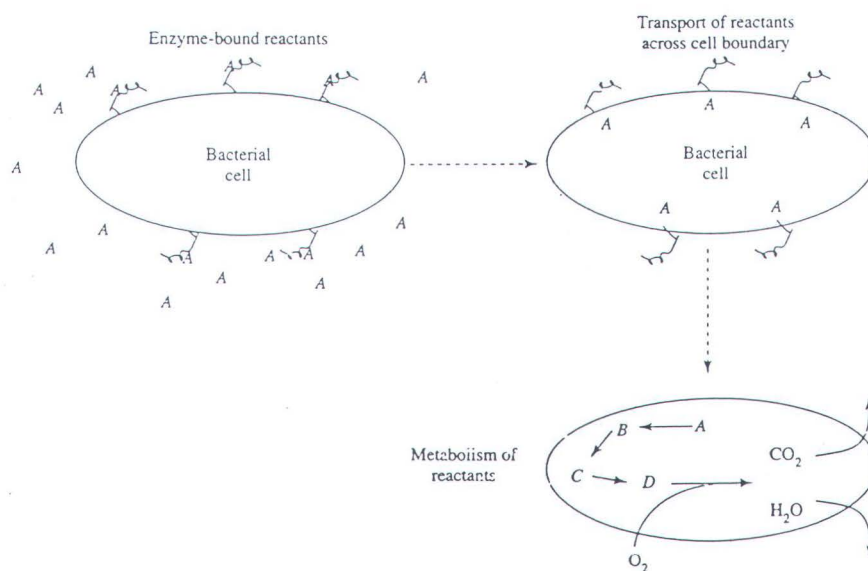
Gambar 3. Rangkaian Siklus Krebs



Gambar 4. Rangkaian Sistem Transpor Elektron

Bagi mikroorganisme untuk memperoleh energi, senyawa harus melewati membran sel sehingga sistem transpor elektron dapat digunakan untuk persediaan energi. Jika senyawa terlalu besar, mikroorganisme akan mengeluarkan eksoenzim. Eksoenzim dikeluarkan melalui dinding sel untuk melakukan digesti ekstraseluler. Eksoenzim dihasilkan dari produk hidrolitik substrat makromolekular (Cookson, 1995).

Awalnya, senyawa “biodegradable” diikat oleh enzim ekstraseluler dan ditransportasikan memasuki dinding sel (Gambar 5). Seri reaksi transformasi kemudian terjadi dimana elektron diambil dari senyawa dan rangka karbon dioksidasi. Energi yang dihasilkan dari reaksi digunakan untuk pembentukan dinding sel baru, perbaikan material, transpor senyawa ke dalam sel, dan kadangkala untuk mobilitas. Setelah kontaminan organik diubah menjadi karbondioksida dan air, proses mineralisasi terjadi (Eweis, 1998).



Gambar 5. Skematik Proses Biodegradasi oleh Bakteri

2.4 Tinjauan Tentang Bakteri Pengurai Hidrokarbon

2.4.1 Bakteri Hidrokarbonoklastik

Mikroorganisme yang mampu menggunakan hidrokarbon sebagai sumber karbon dan sumber energi disebut mikroorganisme hidrokarbonoklastik. Mikroorganisme tersebut mampu menguraikan komponen senyawa hidrokarbon karena kemampuannya mengoksidasi hidrokarbon dan menjadikan hidrokarbon sebagai donor elektronnya. Lebih dari 100 spesies yang termasuk dalam 30 genus mikroba terbukti mampu menggunakan hidrokarbon sebagai sumber energinya. Saat ini sedikitnya terdapat 22 genus bakteri dan 14 genus jamur yang termasuk dalam kelompok hidrokarbonoklastik. Keberadaan bakteri dan jamur yang memanfaatkan senyawa hidrokarbon tersebar luas, baik di lingkungan perairan maupun di lingkungan darat (Atlas, 1992). Mikroorganisme yang banyak hidup dan berperan di lingkungan situs hidrokarbon adalah bakteri, jenis lain yang kehadirannya tidak terlalu dominan tetapi cukup berperan yaitu kapang, khamir, alga, dan aktinomycetes (Kadarwati *et al.*, 1998). Menurut Castro & Huber (2003), bakteri yang dapat memanfaatkan senyawa polutan, dalam hal ini senyawa hidrokarbon, termasuk dalam bakteri heterotrofik yang memperoleh energi dari bahan organik. Bakteri heterotrofik ini dapat ditemukan di seluruh lapisan lingkungan air, kebanyakan di permukaan, dan terdapat dalam jumlah yang melimpah pula di sedimen dasar yang anaerob.

Beberapa genus bakteri hidrokarbonoklastik yang telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari lingkungan perairan (data selengkapnya lihat Tabel 2.4), antara lain: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*,

Micrococcus, Nocardia, Vibrio, Acinetobacter, Brevibacterium, Corynebacterium, Flavobacterium (Atlas, 1992). Selain itu terdapat beberapa genus lain yang berhasil diisolasi, yaitu: Bravibacterium, Serratia, Sarcina, dan Bacterium (Bertrand and Atlas, 1997; Floodgate, 1995 *dalam* Ni'matuzahroh, 2000). Sedangkan beberapa genus bakteri hidrokarbonoklastik yang berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari tanah, antara lain: Pseudomonas, Mycobacterium, Acinetobacter, Arthrobacter dan Bacillus (Martin, 1961). Menurut Fuchs (1961) *dalam* Rheinheimer (1991), genus bakteri hidrokarbonoklastik yang dominan memecah senyawa aromatik, antara lain: Pseudomonas, Vibrio, Spirillum, Flavobacterium, Achromobacter, Bacillus, dan Nocardia.

Dalam proses penggunaan hidrokarbon sebagai sumber energi dan karbon serta dalam mekanisme degradasinya, mikroorganisme hidrokarbonoklastik khususnya bakteri mengembangkan mekanisme khusus. Hal tersebut dikarenakan hidrokarbon merupakan senyawa organik yang relatif sukar larut dalam air. Mekanisme khusus yang dikembangkan oleh mikroorganisme hidrokarbonoklastik tersebut, antara lain dengan pembentukan enzim selular (Chablain *et al*, 1997) dan pembentukan biosurfaktan (Bertrand *et al*, 1997; Ni'matuzahroh, 2000). Selama pertumbuhannya pada substrat yang spesifik, berbagai mikroorganisme hidrokarbonoklastik mensintesis komponen-komponen yang bersifat aktif permukaan (Copper, 1986; Haferburg *et al*, 1986; Reiser *et al*, 1989; Rosenberg, 1986 *dalam* Bertrand *et al*, 1997). Aktivitas permukaan merupakan kemampuan untuk mengadsorpsi pada bidang antar permukaan (interfase) (Desai and Desai, 1993 *dalam* Kosaric, 1993).

Pengkajian tentang pemanfaatan senyawa hidrokarbon aromatik oleh bakteri hidrokarbonoklastik menjadi lebih menarik karena seiring dengan aktivitas biodegradasi yang berlangsung akan terbentuk metabolit tertentu (Maryana, 2001). Sebagai contoh, bakteri pendegradasi minyak bumi akan menghasilkan bioproduk seperti asam lemak, gas, biosurfaktan, dan biopolimer.

Tabel 2.4 Daftar Genus Mikroorganisme Hidrokarbonoklastik

Bakteri	Jamur dan Yeast	Alga
Acetobacter	Aspergillus	Amphora
Achromobacter	Botrytis	Chlorella
Acinetobacter	Candida	Chlamydomonas
Aeromonas	Cephalosporium	Navicula
Agrobacterium	Cladosporium	Syndra
Alcaligenes	Cunninghamella	Ulva
Arthrobacter	Fusarium	<u>Alga Hijau Biru</u>
Bacillus	Geotricum	Anabaena
Bacteriodes	Helicostylum	Nostoc
Beijerinckia	Hormodendrum	Oscillatoria
Brevibacterium	Monilia	Aphanocarpa
Cellulomonas	Monosporium	Microcoleus
Chromobacterium	Mycotorula	
Clostridium	Penicillium	
Corynebacterium	Pichia	
Cytophaga	Pullularia	
Desulfovibrio	Rhizopus	
Enterobacter	Rhodosporium	
Flavobacterium	Rhodotorula	
Gluconobacter	Saccharomyces	
Klebsiella	Tetracoccusporium	
Lactobacillus	Torulopsis	
Mycobacterium	Trichoderma	
Nocardia	Verticillum	
Pseudomonas		
Spirillum		
Streptomyces		
Vibrio		
Xanthomonas		

(Sumber: Ringkasan dari Berbagai Artikel *dalam* Bruchnon, 1987; Green and Trett, 1989).

2.4.2 Pemanfaatan Senyawa Hidrokarbon Aromatik Oleh Bakteri Aerob

Senyawa hidrokarbon aromatik dapat dimanfaatkan oleh mikroorganisme hidrokarbonoklastik sebagai sumber C dan energi untuk pertumbuhannya (Kadarwati *et al.*, 1996; Brock *et al.*, 1994; Pelczar *et al.*, 1993; Ni'matuzahroh, 1998; Sartika, 1998). Teknik bioremediasi untuk senyawa hidrokarbon sebagian besar dilakukan dalam suasana aerob, mengingat kecepatan biodegradasi berlangsung lebih tinggi pada suasana tersebut dibandingkan suasana anaerob (Green and Trett, 1989).

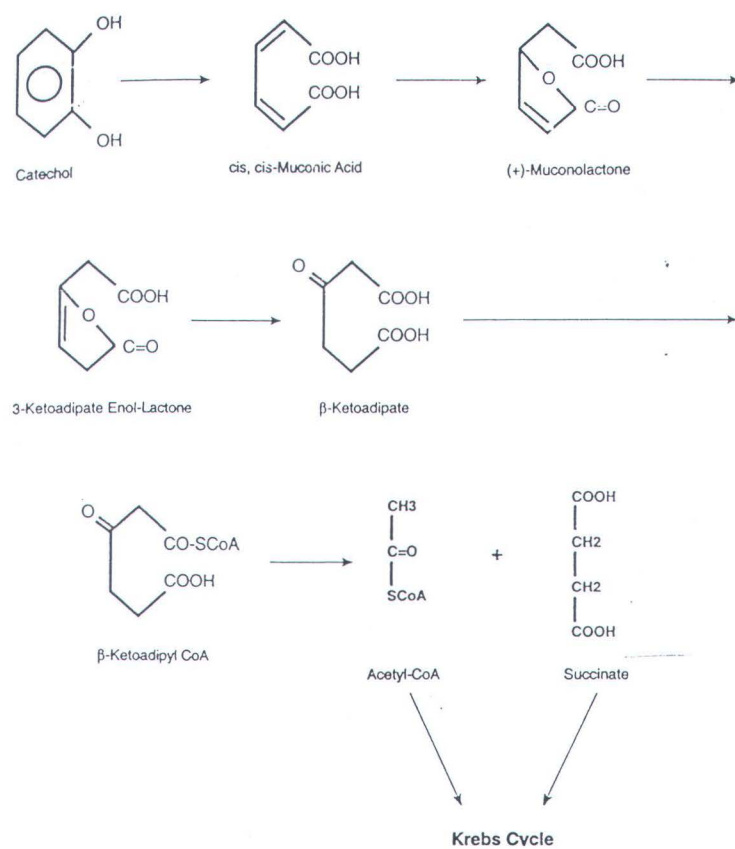
Pada dasarnya, biodegradasi senyawa aromatik melalui 2 cara, yaitu aktivasi cincin aromatik dan pemecahan cincin aromatik. Aktivasi meliputi penggabungan oksigen molekular ke dalam cincin, disebut dihidroksilasi inti cincin aromatik, dengan bantuan enzim oksigenase. Enzim oksigenase dibagi menjadi 2 macam, yaitu monooksigenase (fungi dan eukariotik lainnya) dan dioksigenase (bakteri). Dioksigenase selanjutnya mengkatalisis pembentukan 2 atom oksigen molekular menjadi dihydrodiol. Dihydrodiol kemudian dioksidasi menjadi derivat dihydrodiol, seperti catechol, yang berfungsi sebagai prekursor dalam pemecahan cincin selanjutnya (Eweis, 1998).

Menurut Atlas (1992), bakteri yang memanfaatkan senyawa hidrokarbon aromatik dalam proses awal akan mengubah senyawa hidrokarbon aromatik menjadi *cis*-asam diol. Kemudian *cis*-asam diol akan diubah menjadi cathecol atau protokatekuat. Yang diubah menjadi katekol adalah cincin aromatik yang tersubstitusi pada satu atau dua tempat, misalnya: toluene, benzene, xylene. Sedangkan yang ditransformasi menjadi protokatekuat adalah cincin aromatik yang tersubstitusi pada dua tempat atau lebih, misalnya:

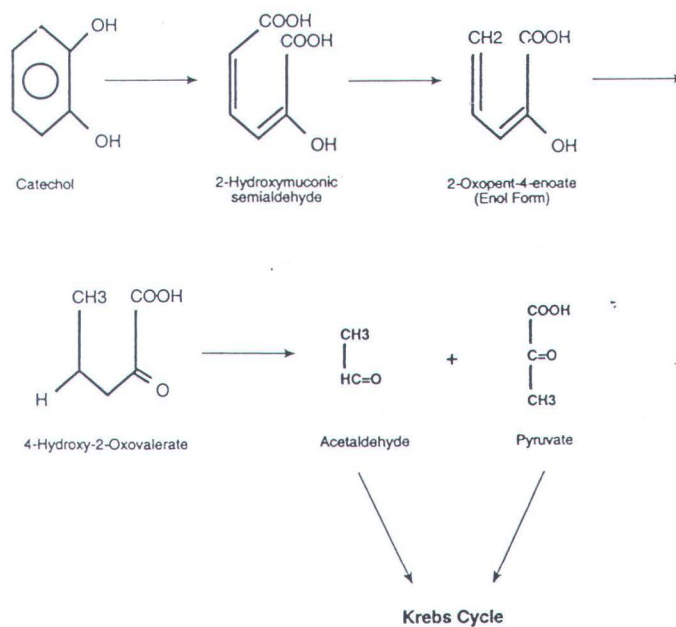
4-hidroksibenzoat, khinat dan vanilat (Schlegel and Schmidt, 1984). Untuk mekanisme catechol selanjutnya dapat melalui 2 cara, yaitu *pemecahan orto* melalui *cis,cis* mukonate, serta *pemecahan meta* melalui 2-hidroksimukonik semialdehid. *Pemecahan orto* akan menghasilkan asetil CoA dan suksinat (Gambar 6), sebaliknya *pemecahan meta* akan menghasilkan piruvat, format, dan asetaldehid (Gambar 7). Pada *pemecahan orto* dan *pemecahan meta*, reaksi diawali dengan penambahan oksigen secara langsung ke dalam cincin aromatik untuk memecah catechol atau protokatekuat, dengan bantuan enzim oksigenase (Green and Trett, 1989).

Benzene yang tersubstitusi-alkyl (toluene dan ethyl-benzene) dioksidasi melalui beberapa langkah. Jika serangan awal melalui cincin aromatik, alkyl catechol dibentuk dan selanjutnya dapat dipecah melalui *pemecahan orto* atau *pemecahan meta*. Namun jika serangan awal melalui grup alkyl maka akan terbentuk asam karbosiklik. Pemecahan cincin aromatik umumnya menghasilkan produk intermedier seperti fumarat dan asetoasetat yang dapat membantu proses siklus krebs (Green and Trett, 1989).

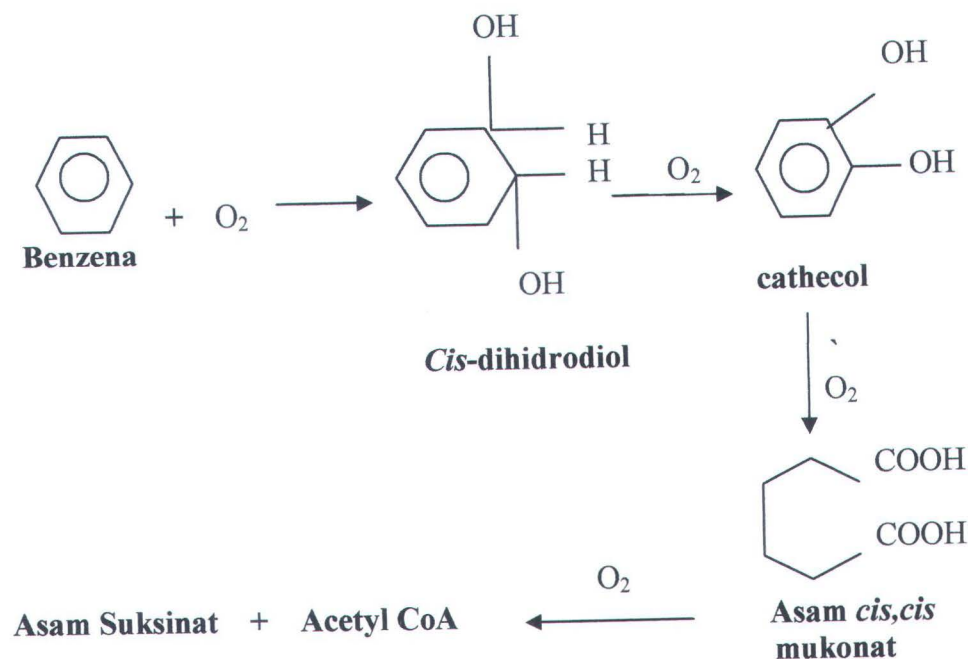
Kedua proses pemecahan akan berlanjut dalam siklus krebs. Pada akhirnya, pemanfaatan senyawa hidrokarbon yang sempurna akan menghasilkan air, karbondioksida, dan biomassa sel (Green and Trett, 1989). Mekanisme proses pemanfaatan senyawa hidrokarbon aromatik oleh bakteri hidrokarbonoklastik dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 6. Proses pemecahan orto



Gambar 7. Proses pemecahan meta



Gambar 8. Mekanisme Pemanfaatan Senyawa Aromatik Oleh Bakteri Hidrokarbonoklastik (Atlas, 1992)

2.5 Faktor-faktor Pendukung Biodegradasi

- **Temperatur**

Berkaitan erat dengan kecepatan oksidasi oleh bakteri. Umumnya kecepatan oksidasi akan meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur (Udiharto, 1992; Chablain et al, 1997). Biodegradasi (pemanfaatan) hidrokarbon dapat berjalan pada kisaran $< 0^{\circ}\text{C}$ hingga $> 70^{\circ}\text{C}$ (Chablain et al, 1997 *dalam* Lestiadewi, 2000).

Aktivitas enzim sangat dipengaruhi temperatur. Pada temperature rendah terjadi penurunan aktivitas enzim. Temperatur 30°C – 40°C merupakan temperatur optimal kerja enzim (Leahy and Collwell, 1990).

Penelitian terbaru oleh Arafa (2003) menyatakan bahwa kecepatan biodegradasi BTEX meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur dengan mencapai optimum pada suhu 37 °C, untuk kemudian menurun pada suhu 45 °C.

- **Oksigen Terlarut**

Oksigen sangat penting dalam proses biodegradasi, mengingat pada proses tersebut oksigen bebas mutlak diperlukan untuk aktivitas oksigenase (Schlegel and Schmidt, 1984). Untuk itu, pemberian “shaker” dilakukan untuk memberikan aerasi (oksigen) terus-menerus ke dalam kultur.

Hasil penelitian terbaru oleh Arafa (2003) tidak sependapat dengan hal tersebut. Dari hasil pengujiannya, menunjukkan bahwa kultur yang di-shaker dan non-shaker memberikan kecepatan biodegradasi yang sama baiknya.

- **Nutrien**

Mikroorganisme menggunakan senyawa hidrokarbon sebagai sumber karbon dan sumber energinya (Chablain et al, 1971; Udiharto, 1992).

- **Kandungan Air**

Air merupakan salah satu syarat mutlak bagi pertumbuhan.

- **Kemampuan Adaptasi Mikroorganisme**

Setiap mikroorganisme memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam mendegradasi hidrokarbon. Kemampuan mikroorganisme tunggal dalam biodegradasi memiliki keterbatasan (Britton, 1984 *dalam*

Leahy and Colwell, 1990). Menurut Suyanto (1998), kemampuan menguraikan zat pencemar bergantung pada enzim yang dibentuk oleh mikroorganisme selama beradaptasi.

2.6 Pertumbuhan Mikroorganisme

Dalam desain eksperimental kultur sel, sangatlah penting memperhatikan fase pertumbuhan kultur untuk menilai karakteristik masing-masing strain sel. Kultur akan berubah-ubah secara signifikan selama pertumbuhan. Oleh sebab itu, penting untuk mengambil penilaian status suatu kultur pada saat permulaan eksperimen dan waktu sampling, serta efek durasi sebuah eksperimen saat ditransisikan dari suatu bagian ke bagian lain. Menambahkan sesuatu (misal: obat) pada saat pertengahan fase eksponensial akan memberikan hasil eksperimen yang berbeda (Freshney, 1994).

Menurut Freshney (1994), pengukuran kuantitatif fase pertumbuhan adalah hal penting dalam kegiatan rutin sebagai elemen fundamental dalam memonitor konsistensi kultur dan mengetahui waktu terbaik untuk mensubkulturkan dan memperkirakan efisiensi/kapasitas cawan petri dengan kepadatan sel yang berbeda.

2.6.1 Deskriptif Pertumbuhan Secara Matematik

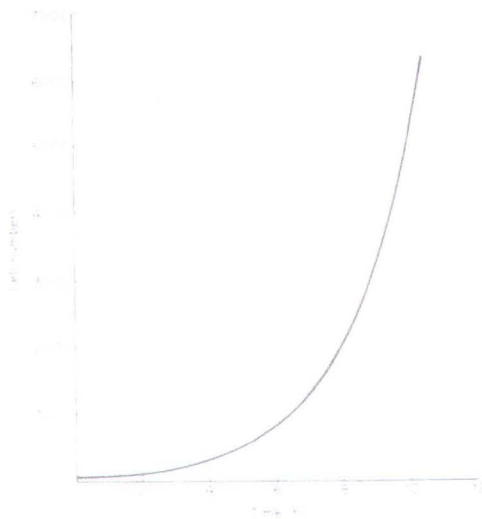
Di bawah kondisi yang sesuai, dengan kehadiran sumber karbon dan energi serta elemen nutrisi esensial, pertumbuhan bakteri akan berlangsung melalui pembelahan biner, yaitu 1 sel menjadi 2 sel, selanjutnya masing-masing sel mengalami pembelahan menjadi 2, begitu seterusnya mengikuti seri

1,2,4,8,16,32,...selama periode waktu tertentu. Peningkatan biomassa sel (N) selama waktu observasi ditunjukkan pada gambar 9.

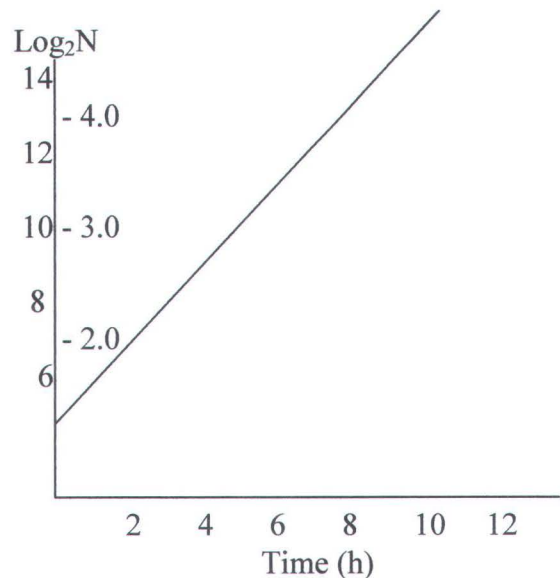
Tipe pertumbuhan bakteri seperti yang ditunjukkan pada Gambar 9 menunjukkan fase eksponensial atau logaritma. Seri 1,2,3,8,16,32, dst, dapat diekspresikan sebagai $2^0, 2^1, 2^2, 2^3, 2^4, 2^5, \dots$. Oleh karena itu, jika $\log_2 N$ diplot terhadap waktu (t) akan diperoleh hubungan garis lurus seperti yang ditunjukkan pada Gambar 10. Konversi logaritma ini memberikan data grafik yang lebih baik, dimana hubungan gradien akan memberikan laju pertumbuhan rata-rata (K):

$$K = \frac{\log_2 N_t - \log_2 N_0}{0,301 t}$$

(Sterritt and Lester, 1994)



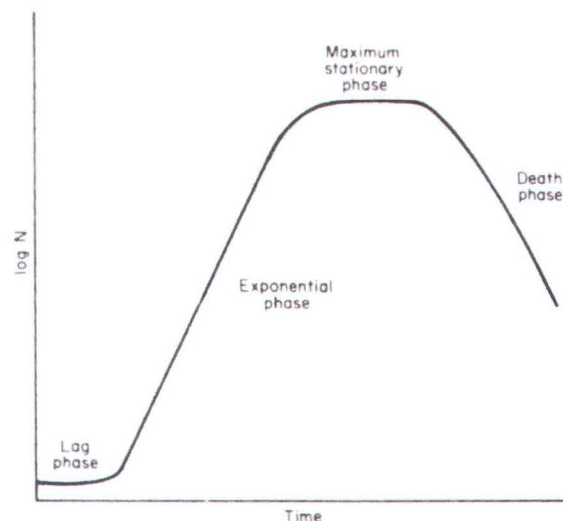
Gambar 9. Fase Eksponensial



Gambar 10. Plot Logaritma Fase Eksponensial

2.6.2 Kurva Pertumbuhan

Awal inokulasi, mikroorganisme akan memasuki periode dimana tidak ada aktivitas pertumbuhan terjadi. Periode ini disebut fase lag dimana terjadi suatu kondisi adaptasi. Saat sel mulai tumbuh, sel memasuki fase eksponensial atau logaritma. Pertumbuhan hanya dapat terjadi apabila elemen nutrisi esensial tersedia. Selanjutnya, saat pertumbuhan sel berkurang maka sel memasuki fase stasioner. Pada fase ini, laju pertumbuhan sel akan mencapai titik nol. Terakhir, saat sel kehilangan kemampuannya untuk hidup (viabilitas), sel akan memasuki fase kematian (lisis). Kurva yang menunjukkan keseluruhan fase pertumbuhan bakteri diberikan pada Gambar 11.



Gambar 11. Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

2.7 Perhitungan Sel

Untuk menentukan fase pertumbuhan suatu kultur dari kenampakannya di bawah mikroskop, patokan kondisi kultur dan persiapan eksperimen

kuantitatif sulit dilakukan kecuali sel-sel tersebut dihitung sebelum dan sesudah, dan lebih disukai selama eksperimen (Freshney, 1994).

2.7.1 *Plate Count*

Plate Count yaitu membuat seri pengenceran kelipatan 10, kemudian diambil 1 ml dari masing-masing pengenceran dan ditanam dalam medium biakan. Setelah diinkubasi 24-48 jam, jumlah koloni yang tampak dihitung dan dikalikan dengan pengencerannya. Syarat yang harus diperhatikan adalah jumlah koloni 30-300 koloni percawan petri dan tidak terdapat spreader (Cappucino and Sherman, 1987).

Metode *plate count* merupakan metode yang paling sederhana dan umum digunakan dalam mengisolasi dan menentukan jumlah mikroorganisme yang hidup pada suatu lingkungan tertentu. Mikroorganisme yang tumbuh dalam medium dianggap bahwa mikroorganisme dari suatu lingkungan tertentu tersebut dapat memanfaatkan nutrisi dalam medium sebagai sumber karbon dan energi (SNI, 1994). Metode ini didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang hidup akan berkembang menjadi satu koloni, sehingga jumlah koloni yang muncul pada cawan merupakan suatu indeks bagi jumlah mikroorganisme yang dapat hidup pada sampel.

Telah dilakukan penggunaan mikroba dengan memanfaatkan hidrokarbon untuk dijadikan indikator pencemaran senyawa hidrokarbon toksik, dalam hal dampaknya terhadap lingkungan perairan dengan menggunakan *plate count* (Atlas and Busdosh, 1976; Crow *et al.*, 1975; Lizarraga *et al.*, 1982; Popova and Novozhilova, 1983 dalam Green and Trett, 1989).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Balai Teknik Kesehatan Lingkungan (BTKL) Surabaya dan Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA ITS pada bulan Mei dan Juni 2005.

3.2 Lokasi Pengambilan Sampel

Sampel diambil langsung dari air laut Pelabuhan Tanjung Perak, Surabaya dan dari bak "oxidation ditch" IPAL PT. SIER Rungkut Industri, Surabaya.

3.3 Alat, Bahan, dan Cara Kerja

3.3.1 Pengambilan Sampel

Sampel diambil dari air laut dengan botol kaca steril pada kedalaman 5 meter dan berada pada jarak minimal 1 meter dari garis tebing. Sedangkan dari bak "oxidation ditch", digunakan "eckman grab", kemudian dimasukkan ke dalam 100 ml botol kaca steril. Sebelum digunakan dalam penelitian, sampel disimpan pada suhu 4°C.

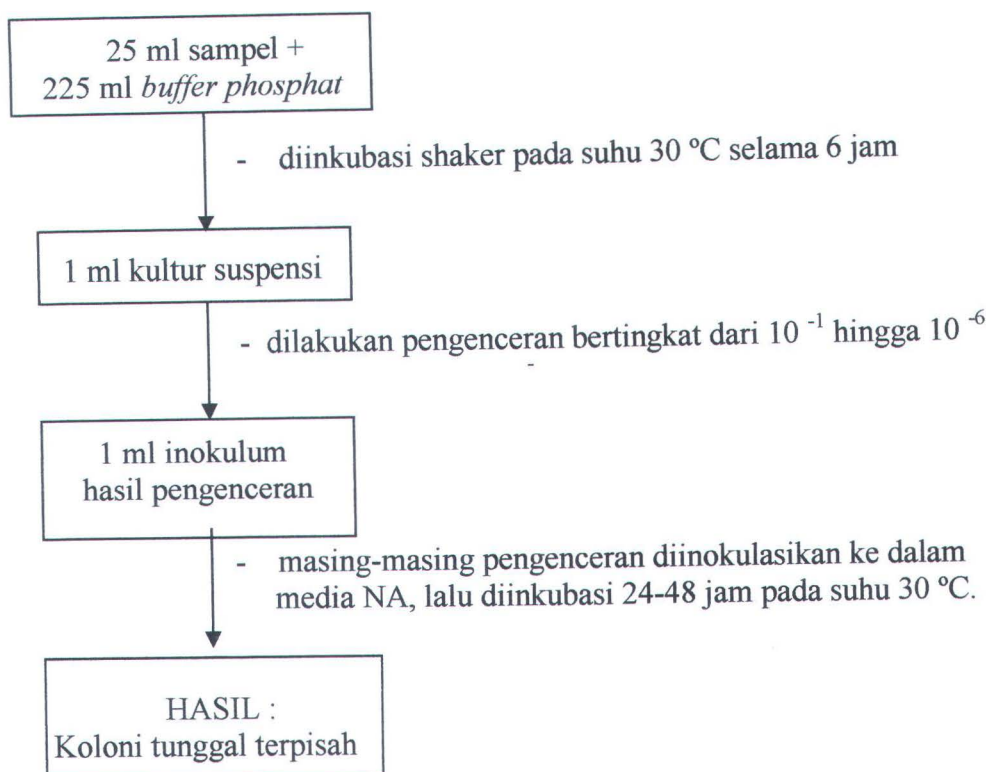
3.3.2 Pengenceran dan Isolasi

Masing-masing sampel dari Pelabuhan Tanjung Perak, Surabaya dan dari bak oxidation IPAL PT. SIER yang telah disimpan pada suhu 4 °C, diambil sebanyak 25 ml untuk kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 225 ml larutan fisiologis *buffer phosphat* dengan perbandingan 1 untuk sampel banding 9 untuk larutan fisiologis, dan di inkubasi-shaker 900 rpm selama 6 jam pada suhu 30 °C, sehingga menghasilkan suspensi. Perbandingan tersebut merupakan metode standar dalam pengambilan sampel (SNI, 1994).

Suspensi yang diperoleh diencerkan (pengenceran bertingkat) dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} dengan menggunakan larutan fisiologis. Teknik pengenceran dilakukan dengan cara menyiapkan terlebih dahulu tabung reaksi yang sudah ditandai dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai 10^{-6} . Masing-masing tabung reaksi diberi larutan fisiologis sebanyak 9 ml. Sampel kemudian diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi bertanda 10^{-1} , suspensi kemudian dihomogenkan dengan vortex. Dari tabung bertanda 10^{-1} diambil 1 ml suspensi lalu dimasukkan ke dalam tabung bertanda 10^{-2} dan suspensi dihomogenkan dengan vortex kembali. Langkah yang sama dilakukan sampai pada tabung yang bertanda 10^{-6} . Setelah pengenceran selesai, dari masing-masing tabung yang bertanda 10^{-1} sampai 10^{-6} diambil 1 ml suspensi kemudian tiap-tiap suspensi ini dimasukkan dalam cawan petri berisi media NA (*Nutrient Agar*) (cawan petri ditandai dengan tingkat pengenceran yang sesuai yaitu 10^{-1} sampai 10^{-6}). Suspensi kemudian disebar-merata dengan gelas penyebar, ditunggu beberapa saat hingga inokulum mengering dan

melekat kuat pada medium, lalu cawan diinkubasi terbalik selama 24-48 jam pada suhu 30 °C.

Koloni yang tumbuh pada setiap cawan diamati. Hanya cawan dengan koloni yang tumbuh terpisah dengan baik, yang kemudian dipilih. Keterangan lebih lanjut mengenai pengenceran dan isolasi ini dapat dilihat pada Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Diagram Alir Uji Pengenceran dan Isolasi

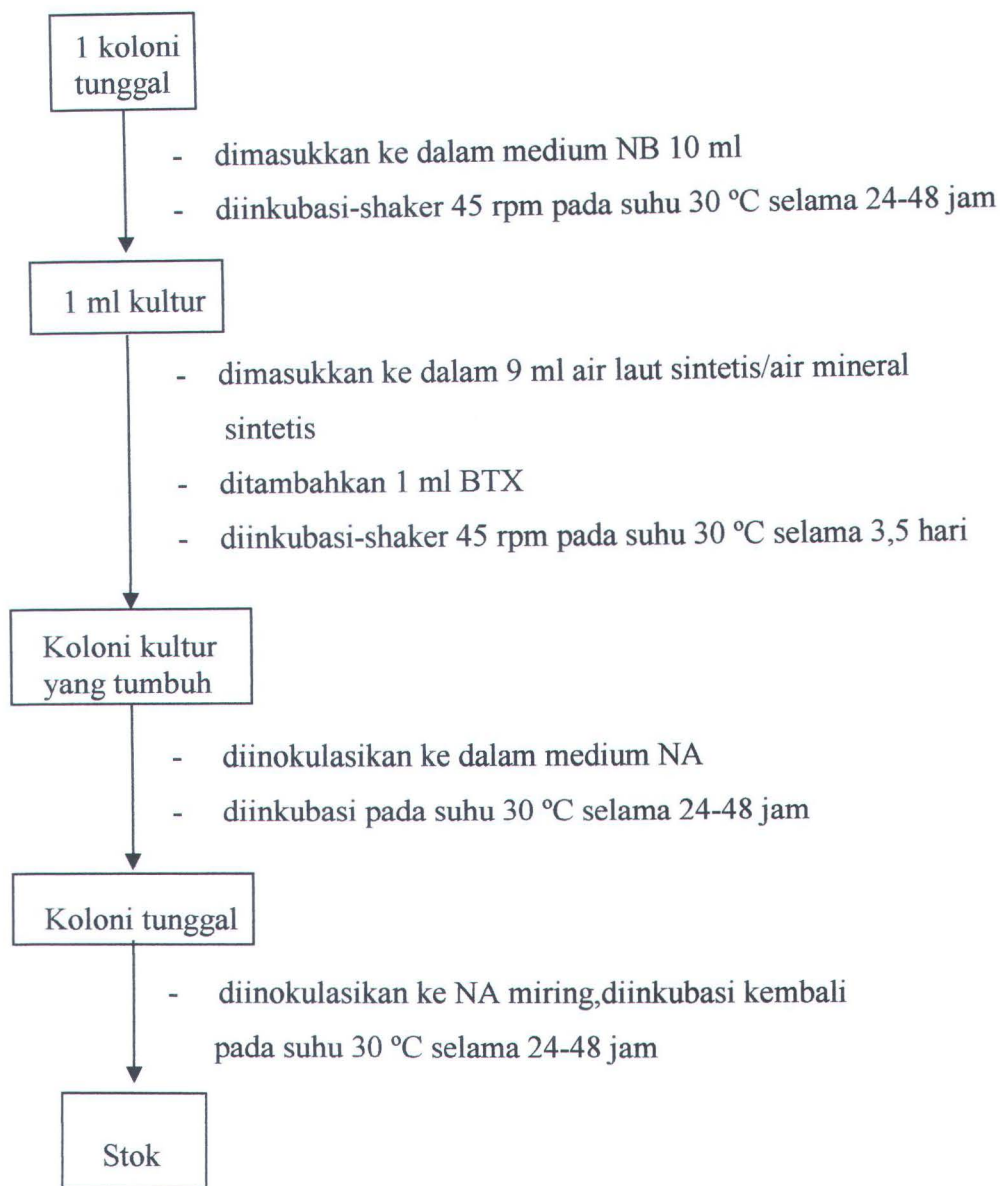
3.3.3 Skrining Bakteri Uji

Skrining bertujuan untuk menentukan isolat bakteri yang mampu hidup dan beradaptasi pada senyawa BTX.

Pada skrining (seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 3.2), setiap koloni yang terpisah, masing-masing dimasukkan ke dalam Erlenmeyer yang berisi 10

ml NB (*Nutrient Broth*), kemudian diinkubasi-shaker 45 rpm pada suhu 30 °C selama 24-48 jam. Lalu 1 ml kultur bakteri dimasukkan ke dalam 9 ml air laut sintetis untuk bakteri laut atau 9 ml air mineral sintetis untuk bakteri lumpur aktif dan 1 ml BTX (dengan masing-masing senyawa BTX memiliki perbandingan sama), diinkubasi-shaker kecepatan 45 rpm pada suhu 30 °C (Arafa, 2003; Collins and Daugulis, 1999) selama 3,5 hari. Penginkubasian 3,5 hari ini merupakan waktu detensi bagi bakteri aerob hidrokarbonoklastik dalam memanfaatkan secara optimum senyawa BTX berdasarkan Maryana (2001).

Kultur yang tumbuh kemudian diinokulasikan ke dalam NA untuk diinkubasi pada suhu 30 °C selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh terpisah diinokulasikan ke dalam NA miring dan diinkubasi kembali pada suhu 30 °C selama 24-48 jam. Koloni yang tumbuh pada NA miring merupakan isolat murni bakteri hidrokarbonoklastik dan dijadikan sebagai stok untuk pengujian berikutnya.

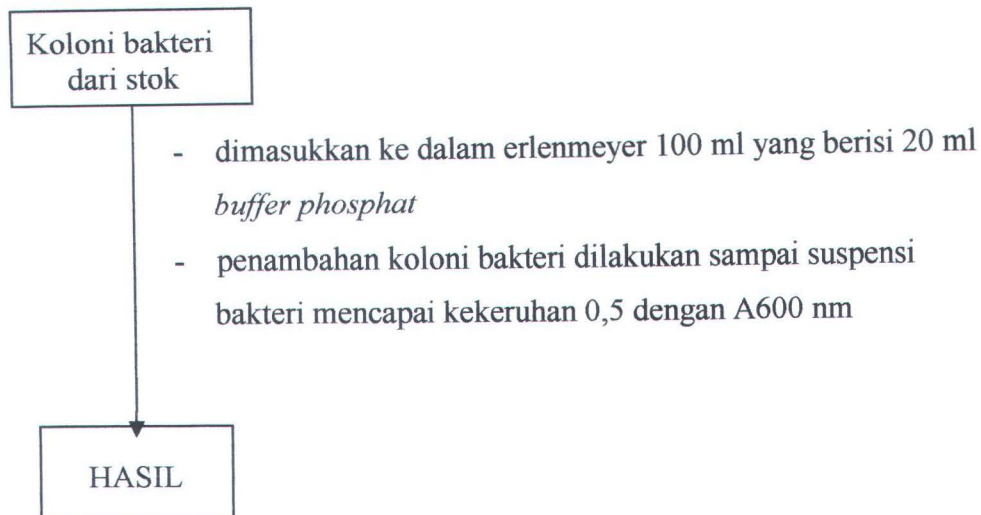


Gambar 3.2 Diagram Alir Uji Skrining

3.3.4 Pembuatan Prekultur

Prekultur dibuat dengan memasukkan koloni bakteri terpilih dari stok NA miring pada tahap skrining ke dalam 20 ml air fisiologis *buffer phosphat* dalam Erlenmeyer 100 ml (ditunjukkan dalam Gambar 3.3) Penambahan

koloni dilakukan sampai suspensi bakteri mencapai kekeruhan 0,5 dengan A_{600} nm.



Gambar 3.3 Diagram Alir Pembuatan Prekultur

3.3.5 Penentuan Laju Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji

3.3.5.1 Pengkulturan Bakteri Uji

Pada tahap awal, sebanyak 16,5 ml kultur bakteri dari tahap prekultur dimasukkan ke dalam 147 ml air laut sintetis untuk bakteri laut atau 147 ml air mineral sintetis untuk bakteri lumpur aktif dan 16,5 ml BTX, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C.

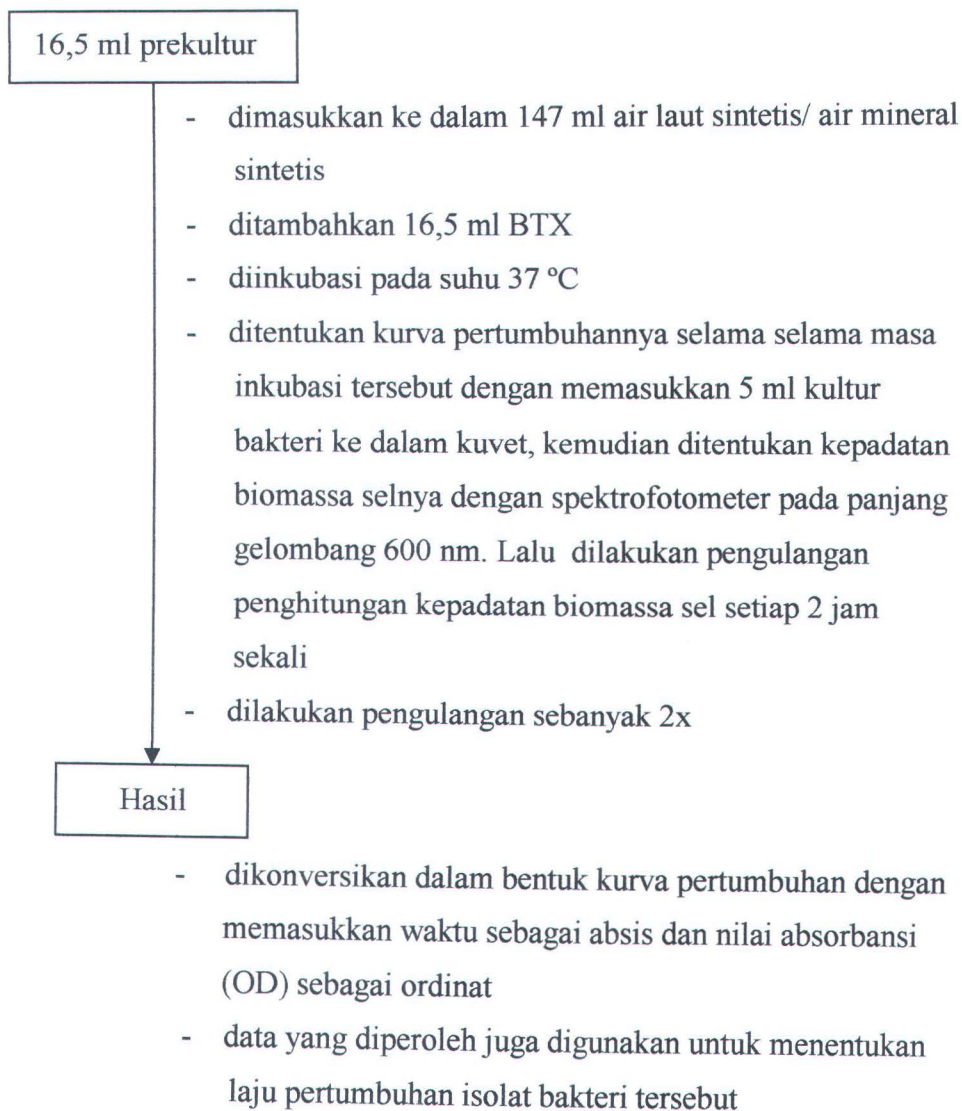
3.3.5.2 Pengukuran Jumlah Koloni

Selama masa inkubasi dalam kultur, sebanyak 5 ml kultur bakteri dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian ditentukan jumlah biomassa selnya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Selanjutnya dilakukan pengulangan penghitungan kepadatan biomassa sel tiap 2 jam sekali hingga isolat bakteri menunjukkan fase stasioner.

Langkah selanjutnya, pada titik awal fase log dan titik akhir fase log yang diketahui dari pengukuran nilai absorbansi biomassa sel, dihitung jumlah koloninya dengan cara *plate count*, yaitu dengan membuat beberapa pengenceran terlebih dahulu dari 1 ml inokulum, kemudian ditanam pada medium NA, dan diinkubasi 37 °C selama 24-48 jam. Penghitungan koloni *plate count* pada awal fase log dilakukan sejak nilai absorbansi biomassa sel bakteri menunjukkan kenaikan, sedangkan penghitungan koloni *plate count* untuk akhir fase log dilakukan sejak nilai absorbansi biomassa sel menunjukkan nilai konstan. Data yang diperoleh digunakan untuk menentukan laju pertumbuhannya. Sedangkan hasil pengukuran absorbansi diaplikasikan dalam bentuk kurva pertumbuhan dengan memasukkan waktu sebagai absis dan nilai absorbansi sebagai ordinat. Keterangan lebih lanjut dapat dilihat pada Gambar 3.4 di bawah ini.

3.3.5.3 Pengukuran Laju Pertumbuhan Bakteri

Laju pertumbuhan menunjukkan besarnya jumlah koloni yang tumbuh per-satuan waktu. Laju pertumbuhan diartikan sebagai selisih antara jumlah logaritma koloni bakteri pada akhir fase eksponensial dan jumlah logaritma koloni bakteri pada awal fase eksponensial dibagi waktu fase eksponensial bakteri tersebut (Sterritt and Lester, 1994).



Gambar 3.4 Diagram Alir Penentuan Laju Pertumbuhan

3.3.6 Pembuatan Kontrol

Kultur untuk kontrol dibuat dengan 163,5 ml media air laut sintetis untuk bakteri laut atau 163,5 ml media air mineral sintetis untuk bakteri lumpur aktif dengan 16,5 ml kultur bakteri tanpa penambahan BTX. Tahap-tahap penentuan laju pertumbuhan pada kontrol sama seperti perlakuan untuk isolat. Selanjutnya untuk tiap titik waktu yang telah ditentukan, inkubasi dihentikan untuk dilakukan pengujian penghitungan koloni bakteri.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Isolasi

Pada tahap isolasi diperoleh 12 isolat bakteri laut dan 33 isolat bakteri lumpur aktif. Dari keseluruhan koloni bakteri tersebut, hanya 4 buah isolat bakteri laut dan 6 buah isolat bakteri lumpur aktif yang mampu hidup dalam tahap skrining.

Hasil pengamatan morfologi koloni untuk isolat bakteri aerob hidrokarbonoklastik yang mampu memanfaatkan BTX sebagai sumber karbon dan energi, ditunjukkan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Sifat-Sifat Koloni Isolat Bakteri Hidrokarbonoklastik Pemanfaat Senyawa BTX

Keterangan	Isolat	Sifat-Sifat Koloni
Bakteri Laut	1	Bentuk koloni bulat, tepi bergerigi, kenampakan dari samping tampak rata, warna koloni kuning muda
	2	Bentuk koloni tidak teratur, tepi berbelah, kenampakan dari samping tampak melengkung, warna koloni kuning
	3	Bentuk koloni bulat, tepi rata, kenampakan dari samping tampak cembung, warna koloni kuning-oranye
	4	Bentuk koloni titik-titik, kenampakan dari samping tampak melengkung, warna koloni kuning tua
Bakteri Lumpur Aktif	1	Bentuk koloni tidak teratur, tepi keriting, kenampakan dari samping tampak rata
	2	Bentuk koloni bulat, tepi bergerigi, kenampakan dari samping tampak rata, warna koloni kuning muda
	3	Bentuk koloni bulat, tepi rata, kenampakan dari samping tampak datar, warna koloni kuning muda
	4	Bentuk koloni tidak teratur, tepi bergerigi, warna koloni kuning muda
	5	Bentuk koloni bulat, tepi rata, kenampakan dari samping tampak datar, warna koloni kuning muda
	6	Bentuk koloni tidak beraturan, tepi bergerigi, kenampakan dari samping tampak melengkung

4.2 Kurva Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji

4.2.1 Bakteri Laut

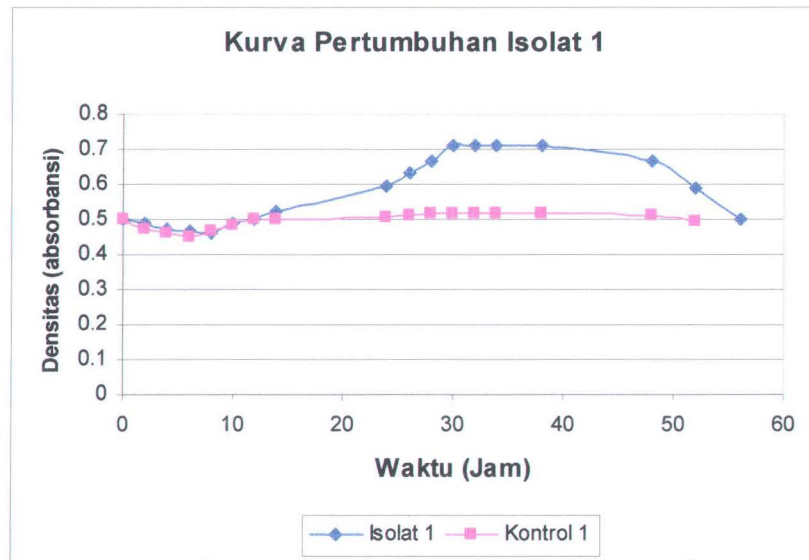
Kurva pertumbuhan kelompok bakteri laut dalam senyawa BTX ditunjukkan pada Gambar 4.1.

Gambar 4.1 (a) dan Gambar 4.1 (c) menunjukkan kedua isolat memiliki pertumbuhan lebih tinggi dibandingkan kontrolnya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa toksik BTX dapat diuraikan dan dimanfaatkan oleh kedua isolat tersebut sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Namun isolat 3 tampak tumbuh lebih baik dibandingkan isolat 1, yang dibuktikan dengan fase lag (masa adaptasi) isolat 3 yang mengalami penurunan densitas yang lebih tajam dibandingkan isolat 2, sehingga isolat 3 menghasilkan jumlah sel lisis yang lebih banyak dibandingkan isolat 2. Hasil sel yang lisis kemudian digunakan dalam metabolisme sel sebagai sumber karbon dan energi tambahan, selain BTX, untuk menunjang pertumbuhannya. Hal ini sesuai pernyataan Sartika (1998) yang mengatakan bahwa hasil sel-sel yang lisis dapat digunakan sebagai sumber nutrisi dan energi, baik karbon maupun protein, untuk mendukung pertumbuhan bakteri.

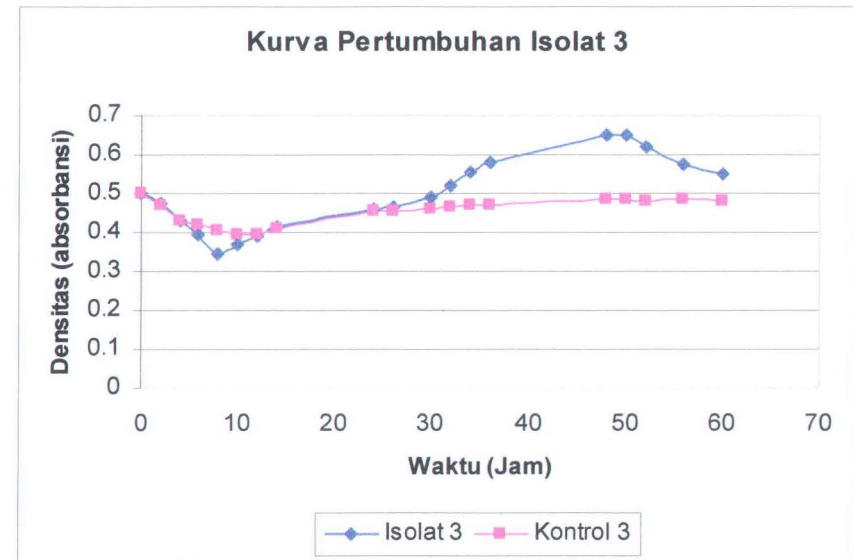
Pada Gambar 4.1 (a) dan Gambar 4.1 (c), kontrol kedua isolat yang mediumnya hanya berupa makroelemen dan mikroelemen tanpa penambahan BTX menunjukkan pertumbuhan yang cenderung konstan atau mengalami kenaikan yang lambat dan kurang signifikan dibandingkan kedua isolat uji. Walaupun dalam medium kontrol terdapat sumber energi lain yang juga fundamental, seperti fosfor dan nitrogen, namun ternyata keberadaan BTX sangat diperlukan mengingat fungsi karbon sendiri sebagai penyusun utama

sel. Dan walaupun masa adaptasi atau fase lag-nya berlangsung cepat, kemungkinan selain tidak tersedianya sumber karbon dan energi pada medium kontrol, unsur-unsur ion-ion pada media air laut sintetis kemungkinan memberikan efek racun bagi bakteri itu sendiri. Hal ini sesuai penelitian Mc. Leod dan kelompoknya dalam Sidharta (2000) mendapatkan bahwa satu diantara sekian bakteri yang ditelitinya memiliki kebutuhan mutlak akan ion besi (Fe^{+2}), tetapi bila diberikan Ni dan Co dengan tingkat yang sama akan bersifat meracuni. Berbeda dengan media uji, walaupun mungkin ada ion yang bersifat meracuni namun mungkin efeknya tidak terlalu berbahaya, kemungkinan akibat dukungan BTX sebagai sumber karbon dan energi untuk membantu ia lebih dapat tumbuh meskipun kemungkinan ada jenis ion yang menghambat pertumbuhannya.

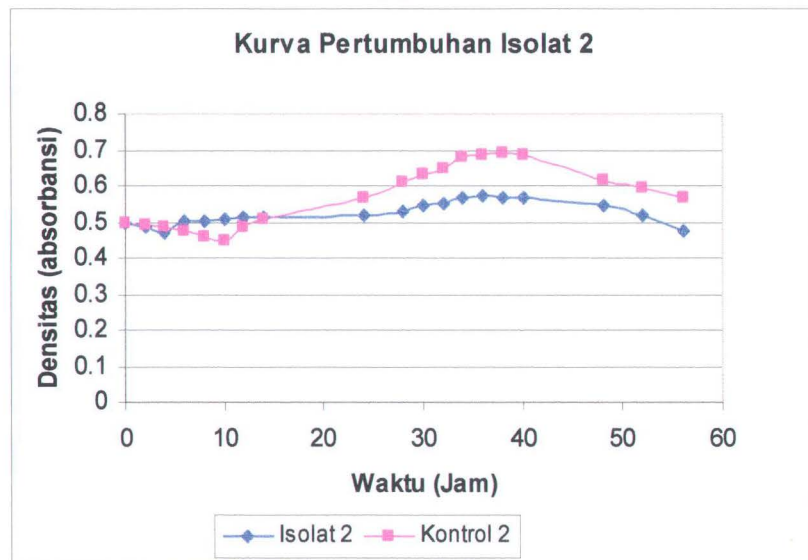
Menurut Sartika (1998), peningkatan pertumbuhan terjadi karena keberadaan BTX yang bersifat toksik menginduksi sistem enzim selama masa adaptasi (fase lag) untuk mensintesis enzim pengurai BTX dan memanfaatkan BTX sebagai sumber nutrisi untuk menunjang pertumbuhannya.



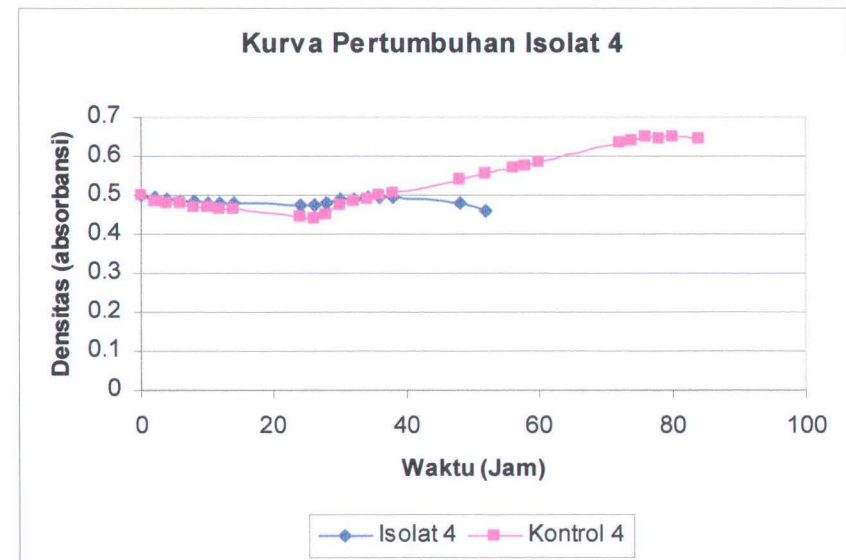
(a)



(c)



(b)



(d)

Gambar 4.1 Kurva Pertumbuhan Bakteri Laut

Pada Gambar 4.1 (b), kurva pertumbuhan isolat 2 memberikan hasil yang berbanding terbalik dengan isolat 1 dan isolat 3, yaitu pertumbuhan isolat 2 lebih rendah dibandingkan kontrolnya. Walaupun fase eksponensial isolat 2 lebih lama dibandingkan kontrolnya, namun pertumbuhan yang terjadi cenderung mengalami kenaikan yang sedikit. Berbeda dengan kontrol, isolat kontrol mengalami kenaikan pertumbuhan yang lebih tinggi dan signifikan. Hasil ini menunjukkan adanya pengaruh toksik BTX yang lebih dominan terhadap pertumbuhan isolat 2. Menurut Sikkema, *et.al.* (1995), senyawa aromatik toksik dapat menyebabkan lisisnya sel sehingga bakteri akan mengalami kematian (Sikkema, *et.al.*, 1995).

Britton (1984) dalam Leahy and Colwell (1990) menyatakan bahwa kemampuan adaptasi suatu bakteri mempengaruhi kemampuannya dalam mendegradasi dan memanfaatkan hidrokarbon. Pada Gambar 4.1 (b), walaupun masa adaptasi isolat 2 terjadi lebih cepat dibandingkan kontrolnya, yang berarti isolat 2 cepat menyesuaikan diri dalam senyawa toksik BTX, namun pada akhirnya BTX kurang mampu dimanfaatkan secara maksimal oleh isolat 2 untuk menunjang pertumbuhannya, kemungkinan akibat sifat toksik BTX yang dominan. Sebaliknya, tingginya pertumbuhan kontrol (Gambar 4.1(b)) kemungkinannya disebabkan kemampuannya memanfaatkan sel-sel bakteri yang lisis (dari fase lag) akibat sifat toksik BTX untuk digunakan sebagai sumber energinya.

Seperti yang ditunjukkan oleh Gambar 4.1 (d), isolat 4 memiliki kurva pertumbuhan paling buruk dibandingkan ketiga isolat lainnya. Hal ini dijelaskan oleh fase lag-nya yang berlangsung lama dibandingkan fase

eksponensialnya, yang berarti isolat ini membutuhkan masa adaptasi lama untuk dapat tumbuh dan mengatasi sifat toksik BTX; didukung pula oleh pertumbuhannya yang konstan dan tidak mengalami peningkatan yang berarti.

Berbeda dengan kontrolnya (Gambar 4.1 (d)), walaupun mengalami masa adaptasi (fase lag) yang juga cenderung lama akibat kemungkinan tidak tersedianya sumber karbon BTX, namun dengan segera ia mampu mengalami pertumbuhan dengan cepat, kemungkinan dengan memanfaatkan sel-sel yang lisis (Sartika, 1998), juga sumber energi dari medium itu sendiri. Selain itu, lamanya masa adaptasi menyebabkan enzim pengurai yang dihasilkan banyak sehingga digunakan untuk membantu memudahkan proses biodegradasi dan pemanfaatan BTX oleh bakteri, maka tidaklah mengherankan pertumbuhan kontrol tampak tajam dibandingkan isolat uji.

4.2.2 Bakteri Lumpur Aktif

Kurva pertumbuhan kelompok bakteri lumpur aktif dalam senyawa BTX ditunjukkan pada Gambar 4.2.

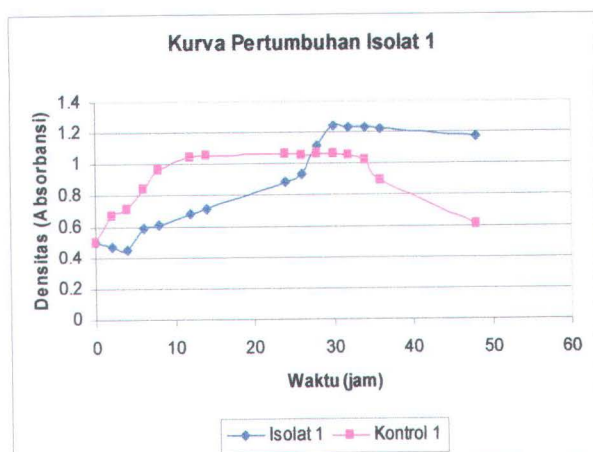
Gambar 4.2 (a) dan Gambar 4.2 (b) menunjukkan kedua isolat memiliki peningkatan pertumbuhan paling baik dibandingkan keempat isolat lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua isolat ini memiliki kemampuan yang besar untuk mengatasi sifat toksik BTX dan memanfaatkannya untuk menunjang pertumbuhan. Namun tampak pula pada gambar, isolat 2 terlihat memiliki kemampuan berduplikasi lebih baik dibandingkan isolat 1, ditunjukkan dengan waktu detensinya (waktu untuk berduplikasi) yang lebih singkat dibandingkan isolat 1. Hal ini berarti isolat 2 lebih mampu mengatasi

sifat toksik BTX, didukung pula oleh fase lag-nya yang lama. Sebaliknya, lebih lamanya waktu detensi isolat 1 kemungkinan disebabkan masih adanya pengaruh lebih toksik BTX saat pertumbuhan.

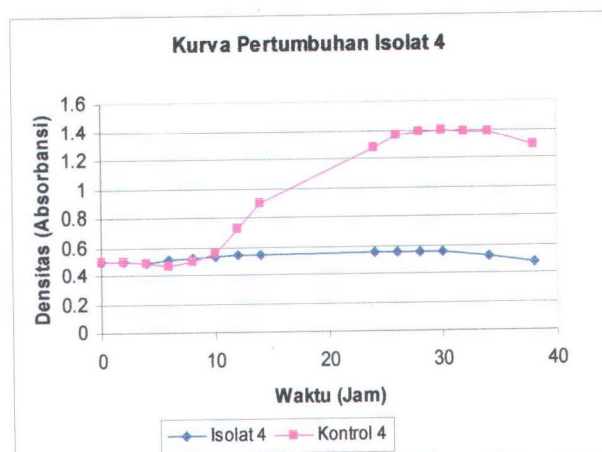
Menurut Green and Trett (1989), beberapa bakteri hidrokarbonoklastik memiliki gen dan plasmid yang mengkode terbentuknya enzim yang berperan dalam memanfaatkan senyawa kimia luar, akan tetapi plasmid hanya berperan dalam sebagian jalur pemanfaatan senyawa kimia tersebut. Adanya gen-gen tersebut menyebabkan bakteri hidrokarbonoklastik memiliki kemampuan adaptasi cepat sehingga dengan segera melakukan fase eksponensialnya secara maksimal.

Walaupun ada Gambar 4.2 (a) dan (Gambar 4.2 (b) ditunjukkan kontrol kedua isolat yang tanpa penambahan BTX juga mengalami peningkatan pertumbuhan dengan segera tanpa melewati fase lag-nya, kemungkinan disebabkan sejak awal tahap prekultur, inokulum yang diambil banyak yang berupa sel-sel yang akan dan telah memasuki fase kematian sehingga saat inokulum tersebut dikulturkan, produk hasil lisisnya sel akan dimanfaatkan oleh sel hidup untuk menunjang pertumbuhannya, didukung pula sumber energi lainnya seperti nitrogen dan fosfor yang terdapat pada medium.

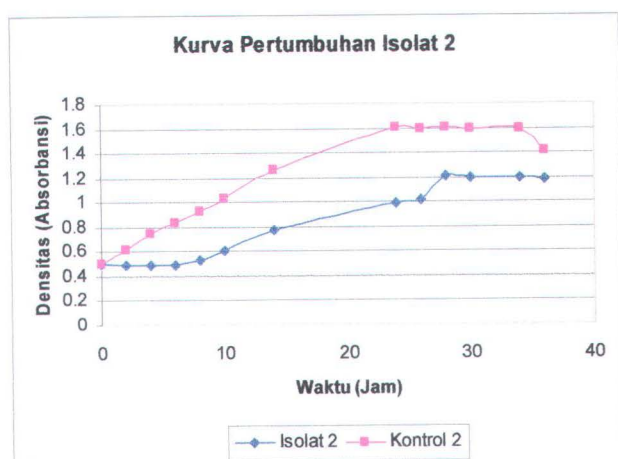
Kondisi yang dialami oleh kontrol kemungkinan terjadi juga pada isolat uji, sehingga tidaklah mengherankan pada fase lag dimana terdapat sel yang mati akibat toksik BTX ditambah sel-sel pada inokulum yang dari awal juga akan dan telah memasuki fase kematian menyebabkan peningkatan pertumbuhan isolat uji berlangsung cukup tajam.



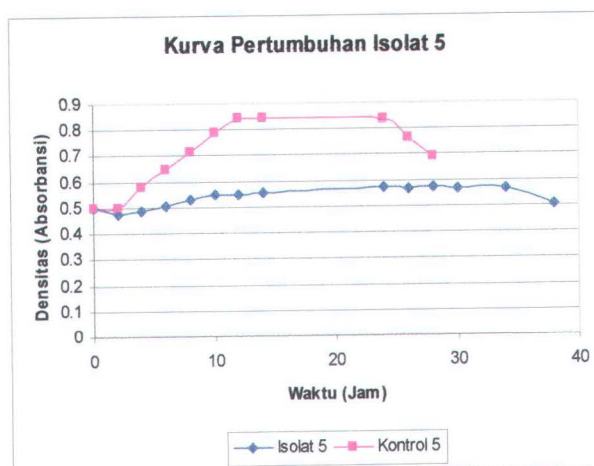
(a)



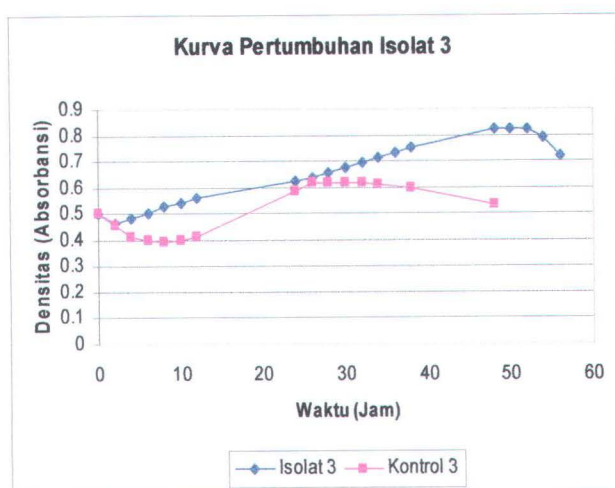
(d)



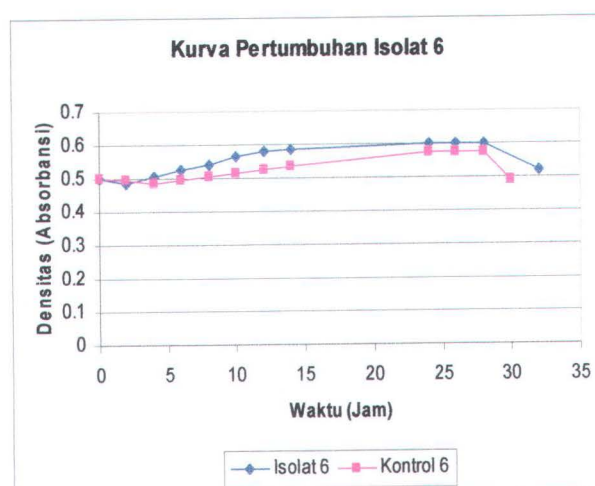
(b)



(e)



(c)



(f)

Gambar 4.2 Kurva Pertumbuhan Bakteri Lumpur Aktif

Gambar 4.2 (c) dan Gambar 4.2 (f) membuktikan bahwa isolat dengan adanya BTX sebagai sumber karbon dan energi akan mengalami pertumbuhan yang lebih baik dibandingkan kontrolnya dimana pada mediumnya tidak ada penambahan BTX dan hanya mengandalkan makroelemen dan mikroelemen yang tersedia di medium, selain juga memanfaatkan pula hasil sel-sel yang lisis untuk mendapatkan sumber karbon. Walaupun isolat pada kontrol memanfaatkan hasil sel lisis serta makroelemen dan mikroelemen yang terdapat dalam medium, namun terbukti pertumbuhannya tidak lebih baik dibandingkan isolat uji.

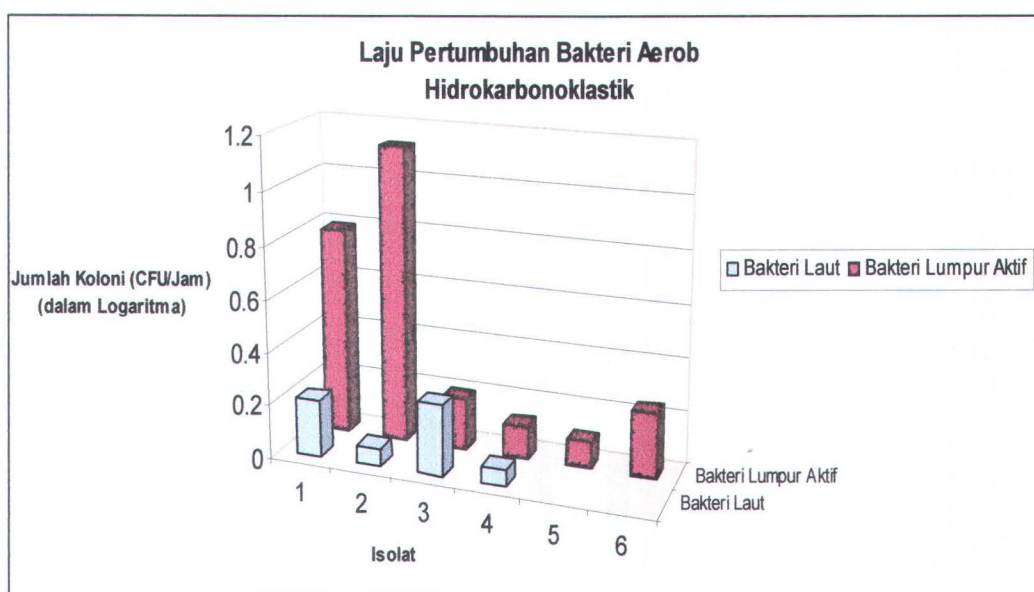
Pada Gambar 4.2 (c) dan Gambar 4.2 (f) terlihat isolat 3 mengalami peningkatan pertumbuhan yang lebih tinggi dibandingkan isolat 6 yang kenaikan pertumbuhannya cenderung konstan dan kurang signifikan walaupun masa adaptasi kedua isolat tersebut sama, kemungkinan disebabkan adanya pengaruh sifat toksik BTX yang lebih kuat pada isolat 6. Selain itu, peningkatan pertumbuhan isolat 3 yang cukup tajam dibandingkan isolat 6, kemungkinan disebabkan isolat telah teradaptasi sangat baik saat tahap skrining pada pengujian sebelumnya.

Kondisi yang berbeda dengan isolat 3 dan isolat 6 ditunjukkan oleh isolat 4 dan isolat 5 pada Gambar 4.2 (d) dan Gambar 4.2 (e). Gambar tersebut menunjukkan kedua isolat mengalami peningkatan pertumbuhan yang teratur dan kurang signifikan, kemungkinan akibat pengaruh toksik BTX yang kuat. Pernyataan ini didukung oleh kontrol yang tanpa penambahan BTX mengalami peningkatan pertumbuhan yang cukup signifikan dibandingkan isolat uji. Dan

untuk control kedua isolat, peningkatan pertumbuhan yang tajam didukung oleh fase lag-nya yang berlangsung lama.

4.3 Laju Pertumbuhan Isolat Bakteri Uji

Hasil penghitungan laju pertumbuhan antara isolat bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari air laut dan lumpur aktif dalam senyawa BTX ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Perbandingan Laju Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dari Air Laut dan Lumpur Aktif

Gambar 4.3 menunjukkan isolat 3 bakteri laut memperlihatkan laju pertumbuhan tertinggi, yaitu sebesar 0,2663 CFU/jam, dan laju pertumbuhan terendah diperlihatkan oleh isolat bakteri 4, yaitu sebesar 0,0632 CFU/jam. Dalam kelompok bakteri lumpur aktif, isolat 2 memiliki laju pertumbuhan tertinggi, yaitu sebesar 1,1254 CFU/jam, dan isolat 5 memiliki laju

pertumbuhan terendah, yaitu sebesar 0,0998 CFU/jam yang kemungkinannya akibat pengaruh toksik BTX yang dominan.

Gambar 4.3 menunjukkan pula bahwa secara keseluruhan, laju pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif lebih baik dibandingkan bakteri hidrokarbonoklastik dari air laut dalam memanfaatkan senyawa polutan toksik BTX sebagai sumber karbon dan energi, ditunjukkan oleh isolat 1 dan isolat 2 bakteri lumpur aktif. Kenyataan ini menunjukkan bakteri hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif berpotensi besar dan paling baik dalam menguraikan dan memanfaatkan substrat toksik BTX.

Menurut Castro and Huber (2003), kecepatan biodegradasi berbeda berdasarkan komunitasnya. Kecepatan biodegradasi hidrokarbon oleh bakteri berlangsung sangat lambat di lautan. Hal ini menunjukkan sifat karakteristik bakteri laut itu sendiri, kemungkinan berkaitan dengan salinitas.

Ward and Brock *dalam* Leahy and Colwell (1990) menerangkan kecepatan metabolisme hidrokarbon oleh mikroorganisme berkurang seiring dengan peningkatan salinitas antara 3,3 % - 28,4 %. Salinitas berkaitan erat dengan nilai aw (activity of water) (Irawan, 1997 *dalam* Safanah, 2005). Peningkatan salinitas akan menurunkan nilai aw dalam sel sehingga aktivitas mikroorganisme terhambat. Padahal air mutlak dibutuhkan dalam biodegradasi hidrokarbon secara aerob terutama untuk aktivitas oksigenase (Schlegel and Schmidt, 1984).

Namun menurut Sidharta (2000), salinitas tidak berpengaruh terhadap proses-proses yang dilakukan oleh bakteri. Pernyataan ini kemungkinan disebabkan pada proses biodegradasi hidrokarbon secara aerob di alam terdapat

emulsi air akibat pengaruh angin dan gelombang (Cooney, 1984 *dalam* Leahy and Colwell, 1990), dimana emulsi diketahui dapat meningkatkan ketersediaan oksigen untuk digunakan mikroorganisme dan membantu ter"soluble"-nya senyawa hidrokarbon aromatik BTX dalam air (Colwell, 1977 *dalam* Leahy and Colwell, 1990). Sedangkan dalam lingkungan laboratorium, digunakan shaker untuk meningkatkan ketersediaan oksigen. Namun pada penelitian ini, proses pengkulturan tidak menggunakan shaker tetapi hanya pada tahap awal saja disebabkan berdasarkan penelitian terbaru dari Arafa (2003), pengkulturan dengan shaker atau non-shaker memberikan hasil yang sama baiknya. Pada dasarnya, publikasi tentang pengaruh salinitas terhadap biodegradasi masih jarang.



Menurut Udiharto (1992) dan Chablain et al, (1997), penguraian dan pemanfaatan senyawa polutan dipengaruhi pula oleh temperatur, sehingga kemungkinan temperatur merupakan faktor yang paling berperan dalam proses proses penguraian BTX di penelitian ini. Temperatur optimal untuk bakteri tanah (lumpur aktif) adalah 37 °C. Sedangkan untuk bakteri laut, Sidharta (2000) menyarankan menggunakan suhu 25-35 °C untuk menghindari terbunuhnya bakteri. Penguraian dan pemanfaatan hidrokarbon dapat berjalan pada kisaran < 0 °C hingga > 70 °C (Chablain et al, 1997 *dalam* Lestiadewi, 2000). Penelitian terbaru oleh Arafa (2003) menyatakan bahwa kecepatan penguraian BTX meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur dengan mencapai optimum pada suhu 37 °C, untuk kemudian menurun pada suhu 45 °C.

Dalam kultur, proses inkubasi dilakukan pada suhu 37 °C dimana merupakan suhu optimum bagi bakteri lumpur aktif namun kurang baik bagi bakteri laut, disebabkan suhu optimum bakteri laut adalah sebesar 30 °C. Walaupun telah dijelaskan bahwa kecepatan penguraian BTX untuk dimanfaatkan sebagai sumber energi akan meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur, namun kemungkinan suhu optimum bagi bakteri laut lebih dibutuhkan dibandingkan suhu optimum penguraian senyawa BTX itu sendiri.

Menurut Eweis (1998) dalam mekanisme biodegradasi senyawa "biodegradable", dalam hal ini senyawa hidrokarbon BTX akan diikat oleh enzim ekstraseluler dan ditransportasikan memasuki dinding sel. Senyawa "biodegradable" (BTX) di dalam sel ini akan menginduksi DNA sel bakteri untuk mensintesis enzim seluler, yaitu enzim dioksigenase yang berfungsi untuk mendegradasi substrat BTX dan dibentuk selama masa adaptasi (fase lag) (Green and Trett, 1989). Selanjutnya, enzim dioksigenase akan bekerjasama dengan oksigen sebagai akseptor elektron dan senyawa BTX sebagai donor elektronnya dalam seri reaksi kimia.

Pada seri reaksi kimia, dioksigenase mengkatalisis senyawa hidrokarbon aromatik (BTX) untuk membentuk 2 atom oksigen molekular menjadi dihydrodiol (*cis*-asam diol). Dihydrodiol kemudian dioksidasi menjadi derivat dihydrodiol, yaitu catechol, yang berfungsi sebagai prekursor dalam pemecahan cincin selanjutnya (Eweis, 1998). Untuk mekanisme catechol selanjutnya dapat melalui 2 cara, yaitu *pemecahan orto* melalui *cis,cis* mukonate, serta *pemecahan meta* melalui 2-hidroksimukonik semialdehid.

Pemecahan orto akan menghasilkan asetil CoA dan suksinat, sebaliknya *pemecahan meta* akan menghasilkan piruvat, format, dan asetaldehid. Kedua proses pemecahan akan berlanjut dalam siklus krebs. Pada akhirnya, pemanfaatan senyawa hidrokarbon yang sempurna akan menghasilkan air, karbondioksida, dan biomassa sel (Green and Trett, 1989).

Pada beberapa bakteri, aktivitas biodegradasi senyawa hidrokarbon aromatik yang berlangsung akan menghasilkan metabolit tertentu, yaitu biosurfaktan yang dapat membantu meningkatkan proses biodegradasi.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari air laut dan bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif yang mampu memanfaatkan senyawa polutan toksik BTX berhasil diisolasi sebanyak 4 buah koloni dan 6 buah koloni.
2. Isolat 3 bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari air laut memiliki laju pertumbuhan paling tinggi dalam memanfaatkan senyawa toksik BTX yaitu sebesar 0,2663 CFU/jam, dan isolat 4 bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari air laut memiliki laju pertumbuhan paling rendah yaitu sebesar 0,0632 CFU/jam. Pada bakteri lumpur aktif, isolat 2 menunjukkan laju pertumbuhan paling tinggi, yaitu sebesar 1,1254 CFU/jam, sebaliknya isolat 5 menunjukkan laju pertumbuhan paling rendah, yaitu sebesar 0,0998 CFU/jam.
3. Bakteri aerob hidrokarbonoklastik dari lumpur aktif memiliki kemampuan lebih baik dalam memanfaatkan BTX sebagai satu-satunya sumber energi dan karbon.

5.2 Saran

1. Isolat 3 bakteri laut hidrokarbonoklastik dan isolat 2 bakteri lumpur aktif hidrokarbonoklastik diharapkan dapat diteliti lebih lanjut mengenai besarnya kemampuan biodegradasi isolat bakteri tersebut dan dapat pula diaplikasikan dalam skala ex-situ untuk mengatasi masalah lingkungan (bioremediasi).
2. Adanya penelitian lebih lanjut mengenai laju pertumbuhan bakteri hidrokarbonoklastik apabila disituasikan pada suhu optimum pertumbuhannya masing-masing, bukan suhu optimum biodegradasinya, juga dari segi pengaruh salinitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abe, A., A.U. Inove, K. Moriya, and K. Horikoshi. 1995. Properties Of Newly Isolated Marine Bacterium That Can Degrade Polyaromatic Hydrocarbons In The Presence Of Organic Solvent. *J. Mar Biotech* 2: 182-186.
- Anonimous. 2005. *Contaminant Profiles*. World Health Organization.
- Arafa, M.A. 2003. Biodegradation Of Some Aromatic Hydrocarbon (BTEXs) by a Bacterial Consortium Isolated From Polluted Site in Saudi Arabia, Pakistan. *Journal of Biological Sciences* 6 (17): 1482-1486.
- Atlas. 1981. Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbons: an Environmental Perspective. *Microbiological Reviews* 45: 180-209.
- Baker, KH. 1994. *Bioremediation*. Mc Graw Hill Inc.
- Bertrand, JC., P. Bonin, G. Gauthier and G. Mille. 1997. The Potential Application of Biosurfactant in Combatting Hydrocarbon Pollution In Marine Environments. *J. Mar. Biotechnology* pp. 53-55.
- Boldrin, B., A. Tiehm, and C. Fritzsche. 1993. Degradation of Phenanthrene, Fluorothrene, and Pyrene by Mycobacterium sp.. *J. Appl. and Environ. Microbiol.*: 1927-1930.
- Brock, TD; M.T. Madigan; J.M. Martiko; and J. Parker. 1994. *Biology of Microorganism*, 7th Edition. Prentice Hall 83: 421-429.
- Brown, W.A., D.G. Cooper., S.N. Liss. 2000. Toluene Removal in an Automated Cyclical Bioreactor. *Biotechnol. Prog.* 16: 378-384.
- Chablain, P.A., G. Philippe, A.T. Croboillat, N., and J.F. Michael-Guespin. 1997. Isolation Of Soil Psychrotrophic Toluena-Degrading Pseudomonas Strain: Influence Of Temperature On The Growth Characteristic On Different Substrates. *Res Microbiol* 148: 153-161.
- Cappucino, J.G and N. Sherman. 1987. *Microbiology: A Laboratory Manual*. The Benjamin_Cummings Publishing Company, Inc. New York.
- Castro, P. and M.E. Huber. 2003. *Marine Biology*, Fourth Edition. Mc Graw Hill.

- Collins, L.D. and A.J. Daugulis. 1999. Simultaneous Biodegradation of Benzene, Toluene, and *p*-Xylene in a Two-Phase Partitioning Bioreactor: Concept Demonstration and Practical Application. *Biotechnol Prog* 15: 74-80.
- Cookson, JT. 1995. *Bioremediation Engineering, Design and Application*. Mc Graw Hill.
- Dwidjoseputro. 1998. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Penerbit Djambatan. Jakarta.
- Eweis, JB; S.J. Ergas; DPY Chang; and ED Schroeder. 1998. *Bioremediation Principles*. Mc Graw Hill Series in water Resources and Environmental Engineering.
- Freshney, R.I. 1994. *Culture of Animal Cells, A Manual Basic of Technique*, Third Edition. Wiley & Sons Inc. USA.
- Gibson, T.D, M. Hensley, H. Yoshioka, and T.J. Mabry. 1968. *Formation Of (+)-cis-2,3-Dihydroxy-1 Methylcyclohexa-4,6-Diene From Toluene By Pseudomonas putida*, *Biochemistry* 7. Departement Of Microbiology And Botany. The University Of Texas.
- Green, J. and M.W., Trett. 1989. *The Fate And Effects Of Oil In Freshwater*. Elsevier Science Publishers Ltd.
- Guerra, S. 1984. *Pseudomonas aeruginosa Biosurfactant Production In Continous Culture with Glucose as Carbon Source*. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 48 : 301-305.
- Hadi, SN. 2003. *Degradasi Minyak Bumi via "Tangan" Mikroorganisme*, Departemen Biokimia IPB. Bogor.
- Irwin, R.J. 1997. *Environmental Contaminants Encyclopedia- Entry for BTEX and BTEX Compounds*. National Park Service, Water Resources Division, Water Operations Branch, Fort Collins, Colorado.
- Kadarwati, S, M. Udiarto, E.H. Legowo, E. Bagio, M. Rahman, E. Jasjfi. 1998. Aktivitas Mikroba dalam Transformasi Substansi di Lingkungan Situs Hidrokarbon. *Lembaran Publikasi LEMIGAS* 2: 28-38.
- Keuth, S dan H.J. Rehm. 1990. Biodegradation of Phenanthrene by *Arthrobacter polythromogenes*, Isolated From a Contaminated Soil. *J. Appl. Microbiol Biotech.* 34: 804-808.
- Kosaric, N. 1993. *Biosurfactant Production In Pseudomonas aeruginosa*. *American Society For Microbiology* 173: 4212-4219.

- Kura. 2003. *Wastewater From Shipyards-Characterization, Minimization, and Treatment*. University of New Orleans.
- Leahy, J.G. and R.R. Colwell. 1990. Microbial Degradation of Hydrocarbons in The Environment. *Microbiological Reviews* (5): 305-315.
- Lee, L.S. Anne. 2000. *Assessing The Spatial And Temporal Distribution Of MTBE and BTEX Compounds In Lake Lewisville, Texas*. University Of North Texas pp. 1-263.
- Lestiadewi. 2000. *Biodegradasi Minyak Solar dan Bekas Minyak Pelumas kapal Oleh Bakteri pemecah Hidrokarbon Pseudomonas putida*, FMIPA UNAIR, hal 21-22.
- Martin, A. 1961. *Introduction to Soil Microbiology*, 2nd edition. John Wiley and Sons. USA.
- Maryana, L. 2001. *Uji Kemampuan Isolat Bakteri Pseudomonas dari Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya Dalam Mendegradasi Toluene*. FMIPA Biologi UNAIR.
- Meek, PD. 1961. *Introduction to Soil Microbiology*, Second Edition. John Wiley and Sons Inc. USA.
- Niken, A dan M. Razif Biodegradasi Minyak Pada Air Buangan Kilang Minyak dengan Lumpur Aktif. *Jurnal Purifikasi*, Vol. 2, No. 4, Juli 2001: 235-240.
- Ni'matuzahroh. 1999. *Peran Mikroba Dalam Upaya Bioremediasi Lingkungan*. Seminar Mikrobiologi FMIPA Universitas Airlangga Surabaya.
- Pine, S.H.; J.B. Hendrikson; D.J. Gram; and G.S. Hammond. 1980. *Organic Chemistry*, Fourth Edition. McGraw Hill Inc. London United States of America.
- Prenafeta-Boldu, F.X., J. Vervoort, J.T.C. Grotenhuis, and W. van Groenestijn. 2002. Substrate Interactions during The Biodegradation Benzene, Toluen, Ethyl-Benzene, and Xylene (BTEX) Hydrocarbons by The Fungus *Cladophialophora* sp. Strain T1. *J. Appl and Environ. Microbiol.* 68 (6): 2660-2665.
- Prince, R.C.; R.R. Lessard; J.R. Clark. 2003. Bioremediation of Marine Oil Spills. *Oil and Gas Science Technology Rev. IFP* 58 (4): 463-468.

- Rheinheimer, G. 1991. Aquatic Microbiology, 4th Edition. John Wiley and Sons Ltd Hal: 161-163 *dalam* Siska Dewi Setiawati. 2004. *Pengaruh Penambahan Biosurfaktan Terhadap Biodegradasi Senyawa Aromatik Toluena oleh Pseudomonas aeruginosa IA7d*. FMIPA Biologi Unair Biologi.
- Safanah, E. 2005. *Pengaruh Lama Pemanasan Dalam Pembuatan Pindang Ikan Tongkol (Euthynnus affinis) Terhadap Angka Lempeng Total Bakteri, Kandungan Escherichia Coli dan Staphylococcus aureus*. FMIPA Biologi ITS.
- Sartika, D. 1998. *Uji Kemampuan Bakteri Limbah Pengilangan Minyak Bumi dalam Biodegradasi Senyawa Fenol dan Fenantren*. Tesis S2. ITB Bandung.
- Schlegel, H.G. and K. Schmidt. 1994. *Mikrobiologi Umum*, edisi 6 (Terjemahan Prof. Dr. Tedjo Baskoro). UGM Press. Yogyakarta.
- Sidharta, B.R. 2000. *Pengantar Mikrobiologi Kelautan*. Universitas Atma Jaya. Yogyakarta.
- Sikkema J., Jan, AM., De Bont., Poolman, Bert. 1995. Mechanism of Membran Toxicity of Hydrocarbons, *Microbiological Reviews* (95): 201-202.
- SNI. 1994. *Kumpulan Standar Metode Pengujian Mutu Hasil Perikanan*. Direktorat Bina Usaha Tani Dan Pengolahan Hasil. Jakarta.
- Spevakova, V and K. Demnerova. 2002. Isolation of Soil Strains from Aquifer and Their Genetic Characterization. Departement Of Biochemistry and Microbiology, Institut of Chemical Technology in Praque, Chezch Republic on 11th TOMASEK DAYS 2002 CONFERENCE OF YOUNG MICROBIOLOGISTS, *Scripta Medica (BRNO)* 77 (2): 95-124.
- Stephen, S. 2002. *BTEX Metabolism Metapathway Map*. University of Minnesota.
- Sterritt, R.M. and J.N. Lester. 1994. *Microbiology for Environmental and Public Health Engineers*. E & FN Spon. UK.
- Suyanto. 1978. Beberapa Catatan Mengenai Bakteri Pseudomonas. *Pewarta OSEANA*, Lembaran Ilmu Pengetahuan Indonesia, Lembaga Oseanologi Nasional No. 5-6: 8-12.
- Udiharto, M. 1992. Isolat Bakteri Thermophilik. *Lembaran Publikasi LEMIGAS* 2 (92): 43-45.

Udiharto, M, A. and Y, Syafrizal. 2000. The Hydrocarbon Losses on Oil Contaminated Soil by Landfarming Bioremediation: A Laboratory Study. *Lemigas Scietific Contributions* 2: 23-28.

Wilbraham, A.C., and M.S.X. Mad Matta. 1984. *Introduction to Organic and Biological Chemistry, 2nd Edition*. The Benjamin Cummings Publishing Company Inc. pp. 184.

LAMPIRAN I

Pembuatan Media

1. Media Air Laut Sintetis

Air laut yang digunakan adalah air laut sintetis berdasarkan Pruti and Cameotra, (1997) yang diperoleh dengan melarutkan (komposisi/liter): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (3 g/l); NaCl (11,7 g/l); $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,75 g/l); 4 gr Tris; 3 g NH_4Cl ; 0,1 mM FeSO_4 dan 0,33mM K_2HPO_4 serta unsur mikroelemen yang komposisi perliternya terdiri atas 400 mg $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$; 400 mg $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 200 mg $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 40 mg CuSO_4 , 40 mg $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 300 mg KI, dan 50 mg $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Sebanyak 1 ml unsur mikroelemen tersebut ditambahkan ke dalam unsur air laut sintetis sehingga mencapai volume 1 liter (Daly et al, 1997) dan pH air laut tersebut ditetapkan sebesar 7,2 (Gibson et al, 1968). Kemudian media tersebut dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 1 liter untuk untuk digunakan sebagai stok.

2. Media Air Mineral Sintetis

Berdasarkan Guerra (1984), air mineral sintetis diperoleh dengan melarutkan (komposisi perliter): NaCl (10 g/L), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,4004 g/L), KCl (1,001 g/L), dan $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,05 g/L) sebagai makroelemen. $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0005 g/L), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0015 g/L), $\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,0015 g/L), H_3BO_3 (0,0003 g/L), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,00015 g/L), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,00015

g/L), $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,0001 g/L), $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,0001 g/L), K_2HPO_4 (2,002 g/L), KH_2PO_4 (1,001 g/L).

3. Media NA

Sebanyak 20 gr media Nutrient Agar (Merck) dilarutkan dengan 1 liter aquades dalam Erlenmeyer, ditambahkan 32 g/l NaCl (sesuai dengan salinitas air laut di Pelabuhan Tanjung Perak Surabaya (Iswanti, 2000)), kecuali untuk bakteri dari lumpur aktif, tidak perlu penambahan NaCl; kemudian dihomogenkan dengan stirrer dan dipanaskan supaya bahan terlarut sempurna. pH media diatur sampai 7,2. Media selanjutnya disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 15 menit. Ketika media masih hangat dituangkan ke dalam cawan petri steril selanjutnya dibiarkan membeku (± 10 menit), setelah membeku, media disimpan pada suhu -4 °C dengan meletakkan cawan pada posisi terbalik (bagian cawan yang ada agarnya menghadap ke bawah) (Dwijoseputro, 1989)

4. Media NB

Sebanyak 24 gr media Nutrient Broth (Merck) dilarutkan dengan 1 liter aquades dalam Erlenmeyer, ditambahkan 32 g/l NaCl (untuk bakteri dari lumpur aktif, tidak perlu penambahan NaCl); distirrer dan dipanaskan supaya bahan terlarut sempurna. pH medium diatur sampai 7,2. Kemudian media disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah disterilisasi selanjutnya didinginkan, lalu disimpan pada suhu -4 °C.

5. Media Buffer Phosphat

Sebanyak 1,25 ml Buffer Phosphat dan 5 ml MgSO_4 dilarutkan dengan 1 liter aquades dalam Erlenmeyer. Kemudian media disterilisasi dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang sudah disterilisasi selanjutnya didinginkan, lalu disimpan pada suhu ruang.

3.2 Bakteri Lumpur Aktif

Isolat	Pengulangan	Jumlah Koloni (CFU) pada fase Eksponensial	
		Awal fase	Akhir Fase
1	1	$7,2.10^6$	$1,9.10^{13}$
	2	$1,4.10^7$	$6,9.10^{12}$
	3	$5,8.10^6$	$1,6.10^{13}$
	Rata-Rata	9.10^6	$1,4.10^{13}$
	Kontrol	$3,3.10^7$	$6,6.10^{11}$
2	1	$7,6.10^5$	6.10^{12}
	2	$4,9.10^4$	$1,8.10^{13}$
	3	$1,2.10^6$	$3,3.10^{13}$
	Rata-Rata	$1,4.10^7$	$1,9.10^{13}$
	Kontrol	$6,7.10^5$	2.10^{17}
3	1	$3,8.10^8$	2.10^9
	2	$3,2.10^6$	$6,4.10^8$
	3	$1,3.10^6$	$5,8.10^8$
	Rata-Rata	$2,8.10^6$	$1,1.10^9$
	Kontrol	$3,1.10^4$	$1,2.10^7$
4	1	$8,2.10^5$	$1,7.10^7$
	2	$9,8.10^5$	$7,4.10^5$
	3	$1,5.10^6$	4.10^6
	Rata-Rata	$1,1.10^6$	$7,3.10^6$
	Kontrol	$9,8.10^5$	$8,2.10^{14}$
5	1	1.10^6	$5,1.10^6$
	2	$5,2.10^5$	$3,5.10^6$
	3	$7,6.10^5$	$3,3.10^6$
	Rata-Rata	$7,6.10^5$	4.10^6
	Kontrol	$1,3.10^6$	$5,9.10^9$
6	1	$1,8.10^6$	1.10^8
	2	5.10^5	$2,8.10^7$
	3	2.10^6	4.10^7
	Rata-Rata	$1,4.10^6$	$5,6.10^7$
	Kontrol	$9,9.10^5$	$9,6.10^6$

LAMPIRAN II

**Tabel 2. Hasil Pengukuran Absorbansi Kurva Pertumbuhan Bakteri Aerob
Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX**

2.1 Bakteri Laut

x	Isolat 1	Kontrol 1	x	Isolat 2	Kontrol 2	x	Isolat 3	Kontrol 3	x	Isolat 4	Kontrol 4
0	0.5	0.5	0	0.5	0.5	0	0.5	0.5	0	0.5	0.5
2	0.489	0.473	2	0.485	0.439	2	0.477	0.469	2	0.493	0.487
4	0.471	0.461	4	0.472	0.486	4	0.432	0.432	4	0.491	0.482
6	0.467	0.452	6	0.501	0.473	6	0.395	0.42	6	0.487	0.478
8	0.459	0.467	8	0.504	0.459	8	0.343	0.407	8	0.484	0.472
10	0.487	0.485	10	0.508	0.448	10	0.368	0.395	10	0.482	0.47
12	0.499	0.498	12	0.512	0.484	12	0.391	0.397	12	0.48	0.467
14	0.521	0.501	14	0.515	0.507	14	0.417	0.442	14	0.479	0.463
16	0.562	0.503	24	0.521	0.565	24	0.458	0.454	24	0.473	0.444
24	0.593	0.506	26	0.524	0.59	26	0.465	0.457	26	0.477	0.439
26	0.632	0.509	28	0.531	0.613	28	0.473	0.459	28	0.482	0.451
28	0.669	0.515	30	0.547	0.633	30	0.491	0.462	30	0.488	0.476

30	0.711	0.517	32	0.553	0.651	32	0.512	0.465	32	0.492	0.483
32	0.709	0.516	34	0.567	0.682	34	0.536	0.469	34	0.496	0.491
34	0.712	0.517	36	0.573	0.705	36	0.553	0.472	36	0.495	0.498
36	0.708	0.516	38	0.57	0.693	38	0.578	0.476	38	0.496	0.505
38	0.71	0.515	40	0.569	0.687	48	0.651	0.484	48	0.478	0.541
48	0.667	0.512	48	0.547	0.615	50	0.639	0.483	50	0.464	0.547
50	0.613	0.507	50	0.532	0.602	52	0.621	0.482	52	0.458	0.554
52	0.588	0.495	52	0.521	0.594	54	0.594	0.483	54	0.437	0.563
54	0.535	0.485	54	0.491	0.583	56	0.573	0.484	56	0.473	0.571
56	0.502		56	0.476	0.567	58	0.561	0.483	58		0.577
58	0.492		58	0.457	0.539	60	0.552	0.482	60		0.584
						62	0.482	0.463	62		0.592
						72	0.311		72		0.633
						74	0.295		74		0.641
									76		0.648
									78		0.647
									80		0.648
									82		0.646
									84		0.645
									86		0.646

2.2 Bakteri Lumpur Aktif

x	Isolat 1	Kontrol 1	x	Isolat 2	Kontrol 2	x	Isolat 3	Kontrol 3	x	Isolat 4	Kontrol 4	x	Isolat 5	Kontrol 5	x	Isolat 6	Kontrol 6
0	0.5	0.5	0	0.5	0.5	0	0.5	0.5	0	0.5	0.5	0	0.5	0.5	0	0.5	0.5
2	0.475	0.675	2	0.486	0.623	2	0.466	0.457	2	0.493	0.493	2	0.475	0.502	2	0.487	0.495
4	0.453	0.713	4	0.483	0.745	4	0.483	0.413	4	0.485	0.484	4	0.488	0.579	4	0.507	0.486
6	0.586	0.837	6	0.491	0.834	6	0.532	0.398	6	0.504	0.476	6	0.503	0.648	6	0.527	0.493
8	0.652	0.956	8	0.513	0.921	8	0.553	0.395	8	0.517	0.96	8	0.529	0.713	8	0.541	0.506
10	0.673	1.01	10	0.537	1.032	10	0.575	0.397	10	0.525	0.511	10	0.548	0.792	10	0.566	0.514
12	0.684	1.038	12	0.564	1.178	12	0.597	0.412	12	0.536	0.704	12	0.548	0.846	12	0.578	0.526
14	0.693	1.051	14	0.59	1.256	14	0.607	0.44	14	0.543	0.901	14	0.553	0.842	14	0.585	0.537
24	0.706	1.063	24	1.119	1.611	24	0.615	0.583	24	0.551	1.143	24	0.572	0.561	24	0.601	0.576
26	0.935	1.05	26	1.21	1.597	26	0.621	0.615	26	0.549	1.365	26	0.569	0.52	26	0.6	0.574
28	1.11	1.061	28	1.218	1.604	28	0.645	0.614	28	0.55	1.389	28	0.571	0.481	28	0.601	0.575
30	1.274	1.059	30	1.198	1.592	30	0.677	0.616	30	0.548	1.405	30	0.57		30	0.488	0.466
32	1.235	1.049	32	1.194	1.587	32	0.693	0.615	32	0.532	1.389	32	0.568		32	0.456	
34	1.21	1.051	34	1.186	1.588	34	0.712	0.61	34	0.515	1.387	34	0.569				
36	1.177	0.721	36	1.183	1.212	36	0.732	0.597	36	0.496	1.212	36	0.54				
38	1.199	0.534	38	1.189	0.854	38	0.751	0.595	38	0.475	0.988	38	0.504				
48	1.218	0.322	48	0.603	0.588	48	0.826	0.533	48	0.455	0.887						
50	0.7		50	0.538	0.402	50	0.825	0.526									
52	0.436					52	0.821										
54	0.665					54	0.731										
						56	0.595										

Keterangan : x = Waktu (Jam)

LAMPIRAN III

Jumlah Koloni Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik dalam Senyawa BTX pada Fase Log

3.1 Bakteri Laut

Isolat	Pengulangan	Jumlah Koloni (CFU) pada fase Eksponensial	
		Awal fase	Akhir fase
1	1	$4,5 \cdot 10^6$	$4,9 \cdot 10^7$
	2	$3,6 \cdot 10^6$	$1,7 \cdot 10^8$
	3	$2,4 \cdot 10^6$	$6,5 \cdot 10^7$
	Rata-Rata	$3,5 \cdot 10^6$	$9,4 \cdot 10^7$
	Kontrol	$3,1 \cdot 10^6$	$8,9 \cdot 10^6$
2	1	$3 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$
	2	$2,8 \cdot 10^6$	$9 \cdot 10^6$
	3	$6,4 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^7$
	Rata-Rata	$2,1 \cdot 10^6$	$8,7 \cdot 10^6$
	Kontrol	$3,8 \cdot 10^6$	$2,5 \cdot 10^8$
3	1	$1 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^8$
	2	$6,8 \cdot 10^4$	$5,9 \cdot 10^7$
	3	$1,5 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^8$
	Rata-Rata	$1,2 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^8$
	Kontrol	$2,5 \cdot 10^5$	$1 \cdot 10^6$
4	1	$4,2 \cdot 10^5$	$1,6 \cdot 10^6$
	2	$3,1 \cdot 10^5$	$4,3 \cdot 10^5$
	3	$1,4 \cdot 10^6$	$1,3 \cdot 10^6$
	Rata-Rata	$7,1 \cdot 10^5$	$1,1 \cdot 10^6$
	Kontrol	$4 \cdot 10^5$	$4,8 \cdot 10^7$

3.2 Bakteri Lumpur Aktif

Isolat	Pengulangan	Jumlah Koloni (CFU) pada fase Ekspansional	
		Awal fase	Akhir Fase
1	1	$7,2 \cdot 10^6$	$1,9 \cdot 10^{13}$
	2	$1,4 \cdot 10^7$	$6,9 \cdot 10^{12}$
	3	$5,8 \cdot 10^6$	$1,6 \cdot 10^{13}$
	Rata-Rata	$9 \cdot 10^6$	$1,4 \cdot 10^{13}$
	Kontrol	$3,3 \cdot 10^7$	$6,6 \cdot 10^{11}$
2	1	$7,6 \cdot 10^5$	$6 \cdot 10^{12}$
	2	$4,9 \cdot 10^4$	$1,8 \cdot 10^{13}$
	3	$1,2 \cdot 10^6$	$3,3 \cdot 10^{13}$
	Rata-Rata	$1,4 \cdot 10^7$	$1,9 \cdot 10^{13}$
	Kontrol	$6,7 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^{17}$
3	1	$3,8 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^9$
	2	$3,2 \cdot 10^6$	$6,4 \cdot 10^8$
	3	$1,3 \cdot 10^6$	$5,8 \cdot 10^8$
	Rata-Rata	$2,8 \cdot 10^6$	$1,1 \cdot 10^9$
	Kontrol	$3,1 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^7$
4	1	$8,2 \cdot 10^5$	$1,7 \cdot 10^7$
	2	$9,8 \cdot 10^5$	$7,4 \cdot 10^5$
	3	$1,5 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$
	Rata-Rata	$1,1 \cdot 10^6$	$7,3 \cdot 10^6$
	Kontrol	$9,8 \cdot 10^5$	$8,2 \cdot 10^{14}$
5	1	$1 \cdot 10^6$	$5,1 \cdot 10^6$
	2	$5,2 \cdot 10^5$	$3,5 \cdot 10^6$
	3	$7,6 \cdot 10^5$	$3,3 \cdot 10^6$
	Rata-Rata	$7,6 \cdot 10^5$	$4 \cdot 10^6$
	Kontrol	$1,3 \cdot 10^6$	$5,9 \cdot 10^9$
6	1	$1,8 \cdot 10^6$	$1 \cdot 10^8$
	2	$5 \cdot 10^5$	$2,8 \cdot 10^7$
	3	$2 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^7$
	Rata-Rata	$1,4 \cdot 10^6$	$5,6 \cdot 10^7$
	Kontrol	$9,9 \cdot 10^5$	$9,6 \cdot 10^6$

LAMPIRAN IV

**Tabel 4. Laju Pertumbuhan Bakteri Aerob Hidrokarbonoklastik
dalam Senyawa BTX**

Keterangan		Bakteri Pemanfaat Senyawa BTX dari Air Laut			
		Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4
Absorbansi	Awal Fase Log	0.487	0.501	0.368	0.477
	Akhir Fase Log	0.709	0.57	0.651	0.495
Jumlah Koloni dalam CFU (N) (dalam Logaritma)	Awal Fase Log (N_0)	6.5441	6.3222	5.0792	5.8513
	Akhir Fase Log (N_t)	7.9731	6.9395	8.1139	6.0414
Waktu selama Fase Log dalam Jam (t)		22	32	38	10
Laju Pertumbuhan (K) (dalam Logaritma)		0.2158	0.0641	0.2653	0.0632

Keterangan		Bakteri Pemanfaat Senyawa BTX dari Lumpur Aktif					
		Isolat 1	Isolat 2	Isolat 3	Isolat 4	Isolat 5	Isolat 6
Absorbansi	Awal Fase Log	0.586	0.491	0.532	0.504	0.488	0.507
	Akhir Fase Log	1.234	1.218	0.825	0.55	0.571	0.6
Jumlah Koloni (CFU) (dalam Logaritma)	Awal Fase Log (N_0)	6.9542	5.8261	6.4471	6.0414	5.8808	6.1461
	Akhir Fase Log (N_t)	13.1461	13.2787	9	6.8633	6.6021	7.7482
Waktu selama Fase Eksponensial (t)		26	22	44	22	24	22
Laju Pertumbuhan (K) (dalam Logaritma)		0.7912	1.1254	0.1928	0.1241	0.0998	0.2419

